AGRONOMIA LUSITANA

VOLUME 20
1958

Estação Agronómica Nacional
PORTUGAL

COMP. E IMP. DA
TIP. ALCOBACENSE, LIMITADA
ALCOBAÇA

AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 20 — N.º 1

1958

ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL

SACAVÉM

PORTUGAL

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
29 DEC 1958

CYTOLOGICAL STUDIES ON JUTE AND ITS ALLIES. I

BY

ARUN KUMAR SHARMA & MIRA ROY
(Cytogenetics Laboratory, Calcutta University)

INTRODUCTION

THE common jute is obtained from two economically important species, *Corchorus capsularis* and *C. olitorius*, growing both in wild and cultivated condition in India. After a thorough study of the distribution of different species of *Corchorus*, KUNDU (1956) suggests that the « primary centre of origin of *C. olitorius* is Africa and secondary centre may be India or the Indo-Burma region ». For *C. capsularis*, Indo-Burman area has been regarded to be the centre of origin. In addition to these two species, a number of other species, such as, *C. acutangulus*, *C. tridens*, *C. siliquosus*, etc. are found growing in India.

Because of their economic importance, these species have been studied from different aspects by different authors (vide KUNDU, 1956). A considerable amount of genetical work, specially involving anthocyanin pigmentation and other characters, has been carried out on these species (BURKILL & FINLOW, 1907; FINLOW & BURKILL, 1912; PATEL, GHOSH & DAS GUPTA, 1944; PATEL, GHOSH & SANYAL, 1945; etc.). As regards their cytology, both diploid and polyploid species have been found, *C. capsularis* as well as *C. olitorius* being diploids with $2n=14$ chromosomes (BANERJI, 1932; DATTA, 1952 *a*, *b*; MUKHERJEE, 1952). Meiotic behaviour has been worked out in a number of species of *Corchorus* (DATTA, 1952 *a*, *b*, 1953; GANGULY, 1945; NANDI, 1937; RAO & DATTA, 1953; SARMA & DATTA, 1953; etc.). Successful artificial polyploids have been obtained, both in *C. capsularis* and *C. olitorius* (BHADURI & CHAKRAVORTI, 1948; RAO & KUNDU, 1949). Viable mutants, following irradiation, were secured by JACOB (1944, 1949-1951).

In spite of the vast amount of data available on the cytology of this genus, no information is forthcoming regarding one of the most important aspects of investigation, that is, on their karyotypes. Such an analysis, as is well-known, forms a prerequisite for any breeding project. Jute chromosomes, being notoriously small, present extreme difficulty in their proper fixation. This is the reason why, besides the chromosome number, no other data on their morphology is available.

Recently, with the discovery of the property of a number of pre-treatment chemicals in clarifying chromosome morphology, new possibilities have been opened up towards the study of chromosome structure. While dealing with the scope of these chemicals in the study of jute chromosomes, it has been possible to standardize a method, suitable for this purpose. With this technique, involving the use of aesculine, the karyotypes of different species of *Corchorus* have been analysed and the data presented in this paper. In addition to the data on chromosome morphology, results of observations on their meiosis too, have been dealt with in the text.

MATERIALS AND METHODS

In the present investigations, four species of the genus *Corchorus* have been studied:

1) *Corchorus acutangulus* LAM.
2) *C. capsularis* LINN.
3) *C. olitorius* LINN. and
4) *C. siliquosus* LINN.

The plants were grown in experimental plots from seeds. Root-tips were obtained from young seedlings.

For a study of the mitosis, a number of trials were given to obtain satisfactory preparations. The root-tips were treated with several pretreatment chemicals, such as oxyquinoline, coumarin, paradichlorobenzene, aesculine, etc. The best effect for *C. olitorius* and *C. capsularis* was obtained after pretreatment with saturated aesculine solution in water for 6 hours at 10°-12° C. *C. siliquosus* yielded best preparations after pretreatment in a mixture of saturated aesculine solution and Newcomer's fixative (Isopropyl alcohol: propionic acid: ether: acetone: dioxan:: 6 : 3 : 1 : 1 : 1) in equal

proportions for 6 hours at 10°-12° C. After pretreatment, the root-tips were heated in a mixture of 2 % aceto-orcein solution and normal HCl (9 : 1) for a few seconds. Subsequently, the root-tips were smeared in 1 % aceto-orcein solution on clean slides, by exerting uniform pressure over the coverglass. The slides were sealed and observed.

For meiotic studies, flower-buds of suitable size were fixed in Nawashin's solutions A and B, mixed in equal proportions. Paraffin blocks were prepared in the usual manner and sections were cut 14 μ thick. The sections were stained following Newton's crystal violet technique. Mordanting, for 12 hours previous to staining and for a few seconds after staining, in 1 % chromic acid, was found to be necessary to obtain satisfactory preparations.

Observations were made at a Leitz microscope and the figures were drawn at a table magnification of $\times$ 3000, using a compensating eyepiece $\times$ 20 and a 1.3 apochromatic objective with an aplanatic condenser of 1.3 N. A.

OBSERVATIONS

Of the four species of *Corchorus* studied, *C. siliquosus* has 2n = 28 chromosomes while the rest have 2n = 14. The chromosomes in general are of medium size. Size difference amongst the chromosomes of a species is not very marked and they form a graded series. The number of chromosomes bearing secondary constrictions varies from ten in *C. siliquosus* to six in *C. capsularis* and *C. olitorius*. The chromosomes of *C. capsularis* are longer than those of the other two species while the chromosomes of *C. siliquosus* are much shorter than the others.

Corchorus olitorius Linn. (2n = 14)

Fourteen chromosomes are present in the somatic complement of this species. On an average they are of medium-size and six of them bear secondary constrictions. Size difference is slight, ranging from 2.7 to 1.3 μ.

On the basis of their relative size and positions of primary and secondary constrictions, the chromosomes can be divided into the following types (Figs. 1 and 1 a):

1) A pair of comparatively long chromosomes, each having two constrictions, primary and secondary, one median in position and the other nearly submedian at the distal end of one of the arms (A).

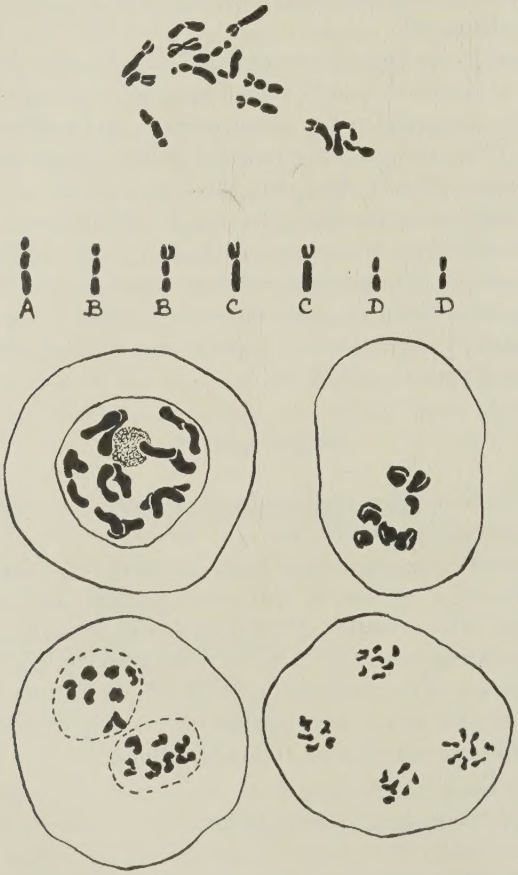


Fig. 1, 1 a, 2, 3, 4 and 5 — Somatic metaphase, idiogram, and meiotic stages of *Corchorus olitorius* LINN.

2) Two pairs of medium-sized chromosomes, each with two constrictions, primary and secondary, both located at nearly submedian positions at the two opposite ends of the chromosome (B).

3) Two pairs of medium-sized chromosomes with nearly submedian primary constrictions (C).

4) Two pairs of comparatively short chromosomes with median primary constrictions (D).

Meiotic studies show the presence of clear seven bivalents at diakinesis (Fig. 2) and first metaphase (Fig. 3). Second metaphase

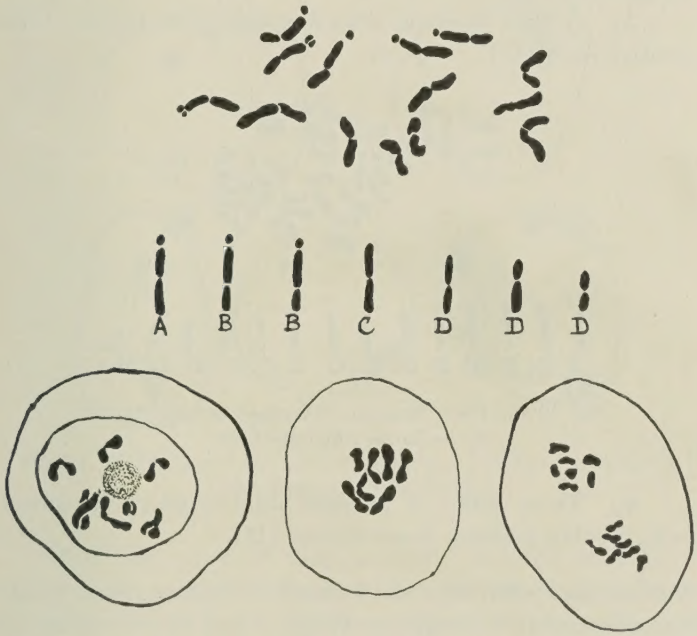


Fig. 6, 6a, 7, 8 and 9 — Somatic metaphase, idiogram, and meiotic stages of *Corchorus capsularis* LINN.

shows seven chromosomes in each daughter cell (Fig. 4) and second telophase regular segregation (Fig. 5).

C. capsularis LINN. (2n = 14)

Fourteen chromosomes are present in the somatic complement. They are longer than the chromosomes of other species of *Corchorus* studied here and six of them bear secondary constrictions. The size ranges from 3.7 to 1.7 μ.

A detailed study of the karyotype divides the chromosomes into the following distinct types (Fig. 6 and 6a):

1) A pair of long chromosomes, each having two constrictions, primary and secondary, one median and the other subterminal in position (A).

2) Two pairs of long chromosomes, each with two constrictions, primary and secondary, one nearly submedian in position and the other subterminal at the distal end of the longer arm (B).

3) A pair of long chromosomes with median primary constrictions (C).

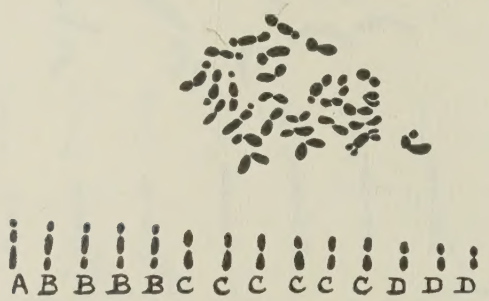


Fig. 10 and 10a — Somatic metaphase and idiogram of *Corchorius siliquosus* LINN.

4) Three pairs of medium-sized to short chromosomes with median primary constrictions (D).

Meiosis is regular with the formation of clear seven bivalents at diakinesis and first metaphase (Figs. 7 and 8) and seven chromosomes in each daughter cell at metaphase II (Fig. 9).

C. siliquosus LINN. (2n = 28)

Twenty-eight chromosomes are observed in the somatic complement. Of them, ten bear secondary constrictions. They are, in general, shorter than those of the other species studied. The size difference ranges from 2.3 to 0.9 μ.

From a detailed study of the karyotype, the following distinct types can be recognized amongst the chromosomes (Figs. 10-10 a):

1) A pair of comparatively long chromosomes, each having two constrictions, primary and secondary, one median

in position and the other submedian at the distal end of one of the arms (A).

2) Four pairs of comparatively long chromosomes, each having two constrictions, primary and secondary, located at submedian to nearly submedian positions at the two opposite ends of the chromosome (B).

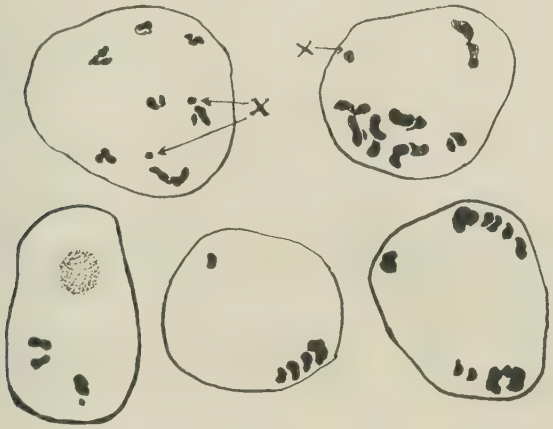


Fig. 11, 12, 13, 14 and 15 — Meiotic stages of *Corchorus acutangulus* LAM.; *X* denotes microbodies.

3) Six pairs of comparatively medium-sized chromosomes with median to nearly median primary constrictions (C).

4) Three pairs of short chromosomes with median primary constrictions (D).

C. acutangulus LAM. (n = 7)

The somatic chromosome number of this species is fourteen.

Meiosis shows a number of irregularities. Two or one microbodies are observed in first metaphase, in addition to 7 bivalents (Figs. 11 and 12). Microbodies can also be seen in the resting stage (Fig. 13). First anaphase is irregular, showing various irregularities like unequal separation, lagging, etc. (Figs. 14-15).

DISCUSSION

It has been revealed in the observations that though the two species, *C. capsularis* and *C. olitorius*, show the same chromosome number, yet differences in the morphology of the complements are clearly noticeable. The chromosomes of *C. capsularis* are comparatively longer than those of *C. olitorius*. Regarding the different types represented in their haploid complements, they are A B_2 C D_3 in *C. capsularis* and A B_2 C_2 D_2 in *C. olitorius*. Such differences clearly come out under a common method of fixation and pretreatment.

C. siliquosus, though containing $2n = 28$ chromosomes, does not necessarily represent duplication of any of the above-mentioned sets. Its haploid karyotype is denoted by the formula A B_4 C_6 D_3. This set is itself an indication of the fact that considerable structural changes of chromosomes have occurred in the evolution of this species.

Karyotype differences between one species and another, as indicated above, suggest further the role of chromosomal alterations in structure, in speciation. This also serves to emphasize the idea that in genera, having uniform chromosome number in their species, karyotype data are useful criteria for identification of their species. The importance of this line of study has been repeatedly emphasized in a number of recent publications (Mookerjea, 1956; Sharma & Bal, 1956; Sharma & N. K. Bhattacharyya, 1956; Sharma & U. C. Bhattacharyya, 1957; Stewart, 1948; Stebbins, 1951; etc.).

Meiotic data, as presented in the text, reveal numerous irregularities in *C. acutangulus*. Meiosis of *C. capsularis* and *C. olitorius*, however, is quite normal. In *C. acutangulus*, in addition to normal seven bivalents, cells have been noticed, showing one or two minute chromatid bodies, which have been termed as « microbodies » in the text. Their origin seems to be obscure. They may have been derived from the heterochromatic segments of normal chromosomes. In any case, their origin is yet to be investigated.

In a large number of P. M. C. in *C. acutangulus*, separation of chromosomes has been found to be irregular and some have been observed to lie at the equator. Cells with low number of chromosomes have also been observed, which possibly arise out of non-disjunction in pre-meiotic cells, as noted in case of *Datura*. Even in the interkinetic state, one or more chromosomes have

been found to lie in a condensed state away from the nucleus. Such chromosomes obviously were not included in any of the daughter nuclei of the previous division. Their condensed condition in the intermitotic stage may suggest the prevalence of heterochromatic segments in the nucleus. Such a high degree of abnormality, in an otherwise apparently diploid species, may indicate that an intermixture of different genomes might have been responsible for its origin.

Another interesting feature worth recording is the reduction in size of polyploid species, as compared to those of the diploid ones. *C. siliquosus* (2n = 28) is a small herb, delicate in nature. *C. capsularis* and *C. olitorius* (2n = 14) on the other hand, as is well-known, are tall plants, reaching a height of even 14 or 15 feet. *C. acutangulus*, though a herb, is spreading in habit and is much larger than *C. siliquosus*. Such reduction in size, in polyploid individuals, has also been recorded in a few other genera (Sharma & Ghosh, 1955; and vide Cain 1944). The occurrence of these cases possibly suggests that polyploidy, after a certain level, may not produce a desirable effect.

SUMMARY

Cytological studies have been carried out on 4 different species of *Corchorus*, namely, *C. capsularis* (2n = 14), *C. olitorius* (2n = 14), *C. acutangulus* (2n = 14) and *C. siliquosus* (2n = 28). Improved techniques, involving the use of aesculin, have been adopted for the study of karyotype analysis, which had previously presented a difficult problem.

A detailed study of the chromosome morphology reveals differences between different species, including even the number of secondary constrictions. Karyotypes have been found to be the identifying characters for each species.

The considerable meiotic irregularities noted in *C. acutangulus*, including microbodies, suggest that different genomes had been responsible for the origin of this species. The heterochromatic nature of microbodies has been surmised.

Reduction in size, along with polyploidy, has been noted in *C. siliquosus*.

SUMÁRIO

O presente trabalho refere a realização de estudos citológicos que incidiram sobre as quatro seguintes espécies do género *Corchorus: C. capsularis* (2n = 14), *C. olitorius* (2n = 14), *C. acutangulus* (2n = 14) e *C. siliquosus* (2n = 28).

A análise dos cariotipos, que a princípio se mostrou como um problema difícil, foi resolvida com o uso de técnicas melhoradas, nomeadamente com a utilização de aesculina.

Um estudo pormenorizado da morfologia dos cromosomas revela diferenças entre as diversas espécies que envolvem mesmo o número de constrições secundárias. Encontraram-se cariotipos característicos para as várias espécies.

As consideráveis irregularidades meióticas observadas no *C. acutangulus*, incluindo a presença de pequenos corpos cromáticos (« microbodies ») que se suspeita serem de natureza heterocromática, sugerem que genómios diferentes tenham participado na génese desta espécie.

Notou-se, em *C. siliquosus*, que no decorrer do processo da poliploidia se deu uma redução de estatura.

REFERENCES

BANERJI, I.

1932 Chromosome number of Indian crop plants. I — Chromosome numbers in jute. *J. Indian Bot. Soc.*, **11**: 82-85.

BHADURI, P. N. & CHAKRAVORTI, A. K.

1948 Colchicine induced autotetraploid jute. *C. capsularis* and *C. olitorius* and the problem of raising improved varieties. *Sci. & Cult.*, **14**: 212-213.

BURKILL, I. H. & FINLOW, R. S.

1907 Races of jute. *Agric. Ledger.* **6**: 41-137.

CAIN, S. A.

1944 *Foundations of plant geography.* Harper & Bros., New York.

DATTA, R. M.

1952a Meiosis in *Corchorus capsularis* L. *Sci. & Cult.*, **17**: 523.

1952b Irregular meiosis in *Corchorus olitorius* L. *Sci. & Cult.*, **18**: 149.

1953 Meiosis in *Corchorus* spp. *Sci. & Cult.*, **18**: 385-386.

FINLOW, R. S. & BURKILL, I. H.

1912 Inheritance of red colour and the regularity of self-fertilization in *Corchorus capsularis* L., the common jute plant. *Mem. Dep. Agric. India Bot.*, **4**: 73.

GANGULY, J. K.

1945 A note on the secondary association of chromosomes and basic number in *Corchorus capsularis. Sci. & Cult.*, **11**: 272.

JACOB, K. T.
1944 X-ray studies in jute, I. *Sci. & Cult.*, **9**: 502-503.
1949-1951 X-ray studies in jute, II. *Trans. Bose Res. Inst.* **18**: 23-31.
KUNDU, B. C.
1956 Jute — World's foremost Bast Fibre, I & II. *Econ. Bot.*, **10**: 103-133 and 203-240.
MOOKERJEA, ARCHANA
1956 A cytological study of several members of the Liliaceae and their interrelationships. *Ann. Soc. zool.-bot. Vanamo*, **29**: 1-44.
MUKERJEE, S. K.
1952 Meiosis in some *Corchorus* spp. *Sci. & Cult.*, **18**: 91.
NANDI, H. K.
1937 Trisomic mutations in jute. *Nature* **140**: 973-974.
PATEL, J. S., GHOSE, R. L. M. & DAS GUPTA, B.
1943 The genetics of jute *(Corchorus)*, II. *Ind. Cent. Jute Comm. Agr. Res. Mem.*, **3**:
——————— & A. T., SANYAL
1945 The genetics of jute *(Corchorus)*, III. *Indian J. Genet.* **4**: 75-79.
RAO, N. S. & DATTA, R. M.
1953 Chromosomes of the genus *Corchorus*. *Nature*, **171**: 754.
——————— & KUNDU, B.
1949 Effect of gammexane on the root-tips of *Corchorus capsularis* L. *Sci. & Cult.*, **14**: 484.
SARMA, M. S. & DATTA, R. M.
1953 Complex chromosome mosaics and variable microsporocytes in *Corchorus capsularis* L., *Sci. & Cult.* **10**: 202-203.
SHARMA, A. K. & GHOSH, CHITRA
1954 Further investigations on the cytology of the family *Amaryllidaceae* and the interpretation of its phylogeny. *Genet. Iber.*, **6**: 71-100.
——— ——— & BAL, A. K.
1956 A cytological study of a few genera of *Amaryllidaceae* with a view to find out the basis of their phylogeny. *Cytologia*, **21**: 329-352.
——————— & BHATTACHARYYA, N. K
1956 An investigation on the karyotype of the genus *Crinum* and its phylogeny. *Genetica*, **28**: 263-296.
——————— & BHATTACHARYYA, U. C.
1957 Cytological studies in *Begonia*, I. *La Cellule*, **58**: 307-329.
STEBBINS, G. L.
1951 *Variation and evolution in plants*. Columbia Univ. Press, New York.
STEWART, R. M.
1948 Morphology of somatic chromosomes in *Lilium*. *Amer. J. Bot.* **34**: 9-26.

ESTUDO DA BRANÇA DO ARROZ

I. COMBATE DA DOENÇA

POR

J. M. DE ARRIAGA E CUNHA

E

J. E. BAPTISTA

Estação Agronómica Nacional, Departamento de Fisiologia Vegetal

INTRODUÇÃO

SOB a designação de «brança» englobam-se no nosso país várias alterações fisiológicas e doenças parasitárias do arroz que têm como característica comum a esterilidade de todas ou de algumas flores das panículas. Essa esterilidade pode ter causas muito diversas; no presente trabalho estudamos porém apenas o aspecto da brança que corresponde ao que nos países de língua inglesa se designa por «straighthead» e que constitui uma doença fisiológica do arroz.

Esta doença é muito frequente quer em terras novas de arroz, diminuindo em geral de intensidade com os anos de cultura, quer em determinados arrozais já estabelecidos, agravando-se neste caso em geral com a continuação da cultura do arroz. Trata-se de uma doença cuja causa reside nas condições do solo, embora a sua intensidade possa ser influenciada, como aliás acontece com todas as doenças das plantas, pelas condições climáticas, não podendo pois confundir-se com certos acidentes de consequências semelhantes, mas causados por condições climáticas adversas à fecundação, que aparecem esporàdicamente e se generalizam a regiões muito vastas.

A brança, no sentido restricto em que neste trabalho aplicamos o termo, é muito difícil de diagnosticar só pela observação da parte aérea das plantas, antes do aparecimento das panículas, notando-se apenas, por vezes, uma cor verde mais escura das folhas.

Observando o sistema radicular verifica-se porém que as plantas com brança apresentam um grande número de raízes

grossas e pouco ramificadas (« water roots »), enquanto que as plantas normais apresentam poucas destas raízes e uma quantidade maior de raízes finas e ramificadas.

As panículas das plantas doentes emergem mais lentamente que as das plantas normais, não se alongando em geral os pedúnculos tanto como nestas, e ficando até muitas vezes a panícula total ou parcialmente no interior da bainha. As glumas também se encontram em geral incompletamente desenvolvidas nas plantas doentes, podendo por vezes faltar uma e a outra estar encurvada em forma de foice (ver descrição destes sintomas em TIESDALE & JENKINS, 1921).

Nas panículas e nas flores das plantas doentes observam-se todos os graus de anomalia, desde a total ausência dos orgãos florais até à formação de flores de aparência normal mas estéreis.

Logo após a emergência das panículas é muito frequente observar-se que nas flores das plantas afectadas as glumas estão permanentemente afastadas uma da outra, ao contrário do que é normal.

Ao aproximar-se a maturação já qualquer pessoa distingue fàcilmente as plantas doentes das sãs. De facto, enquanto as plantas sãs vergam as panículas sob o peso do grão e apresentam folhas e colmos com a cor amarelada normal, nas plantas com brança as panículas mantêm-se erectas e com pouco ou nenhum grão, apresentando as folhas e colmos uma cor verde carregada. Além disso, nas plantas com brança, as folhas mais novas permanecem enroladas e aplicadas contra o colmo, sendo difíceis de destacar mesmo depois de as plantas secarem.

Se ceifarmos plantas sãs e plantas doentes verificar-se-à uma muito maior tendência para a rebentação das toiças das plantas com brança.

O tipo de brança que estudamos neste trabalho aparece em toda a parte do mundo onde se cultiva arroz de regadio, causando prejuízos apreciáveis.

Vários autores, sobretudo americanos, italianos e asiáticos, estudaram este acidente fisiológico. As causas que julgam em geral responsáveis pela brança são, para uns, o excesso de fertilidade do solo, sobretudo excesso de azoto, e, para outros, as más condições de arejamento derivadas da submersão contínua.

As medidas que perconizam para combater o acidente são em geral tendentes a provocar um melhor arejamento do solo. Há a

destacar entre elas a interrupção da rega, deixando muitas vezes o solo secar até abrir fendas. Esta prática parece atenuar muito a branca, segundo afirmam todos os autores que estudaram o assunto. No nosso país tivemos ocasião de observar esta prática na região de Abrantes, onde se lhe chama «dar uma cresta ao arroz»; os resultados são, ao que nos afirmaram, bons.

Alguns autores preconizam o uso de variedades resistentes.

Com o auxílio das Comissões da F. A. O. nos vários países, enviámos um questionário aos diversos centros de orizicultura do mundo, informando-nos do estado actual da investigação respeitante à branca.

Das respostas recebidas conclui-se que nos Estados Unidos da América do Norte continuam activamente os trabalhos de investigação acerca deste acidente fisiológico, permanecendo contudo as suas causas desconhecidas; não temos conhecimento de investigações em curso noutros pontos do mundo, sendo contudo enormes, conforme nos assinalam do Japão, por exemplo, os prejuízos causados anualmente pela branca.

No nosso país a branca já mereceu a atenção de vários estudiosos como Celestino Graça (1941 *a* e *b*, 1942), Costa Rosa (1941), Silveirinha (1942) e Rosa Rodrigues (1944).

O Eng. Agrónomo Francisco Pereira Beija, chefe da Brigada Técnica Agrícola de Setúbal, chamou a atenção do Departamento de Fisiologia Vegetal da E. A. N. para a grande importância económica dos prejuízos causados por este acidente fisiológico do arroz e, portanto, para o grande interesse que teria a sua investigação.

Este Departamento iniciou o estudo da branca no verão de 1953, tendo sido elaborado, para esse fim, o seguinte plano:

a) Observação atenta da sintomatologia da doença.
b) Colheita do maior número possível de informações, no campo, sobre as condições de ocorrência da doença, tais como: locais mais sujeitos, variação de intensidade com os anos, relação com as adubações, etc.
c) Estudo da bibliografia disponível, sobre o assunto.
d) Análise química de plantas sãs e doentes e dos solos respectivos.

A maior dificuldade na execução deste plano inicial surgiu porém na alínea d), pois, na impossibilidade material em que nos encontrávamos, ao tempo, de analisar todos os elementos minerais essenciais que constituem as plantas, era necessário escolher alguns deles. E escolheram-se preliminarmente o ferro e o manganés, por serem daqueles elementos cujo estado é mais nìtidamente influenciado pelas condições anaeróbias criadas pelo alagamento.

De facto é sabido que em solos alagados a solução do solo contém elevadas concentrações de ferro e de manganés que por vezes chegam a ser tóxicas para as plantas. Isto deve-se ao facto de os sais férricos e mangânicos, menos solúveis, serem, em condições de deficiência de oxigénio, reduzidos por certas bactérias, passando à forma de sais ferrosos e manganosos, mais solúveis (Robinson, 1930; Mann & Quastel, 1946).

Tendo em conta este facto e ainda sabendo que certos autores como Kapp (1938) conseguiram provocar a esterilidade de plantas de arroz aumentando a concentração de manganés nas soluções em que essas plantas eram cultivadas, formulámos uma primeira hipótese de trabalho, para tentar explicar a brança.

Segundo esta hipótese de trabalho o aparecimento da brança explicar-se-ia pelo grande aumento da concentração de manganés na solução do solo que se verifica quando se cultiva, em condições de alagamento, um solo até aí mantido em condições normais de arejamento. Nos casos em que a brança diminui de intensidade com os anos, este facto dever-se-ia ao arrastamento dos sais de manganés, o que era confirmado pelos depósitos deste metal que têm sido encontrados a certa profundidade, sob os arrozais.

As primeiras análises químicas de plantas de arroz, por nós feitas, vieram aumentar o nosso interesse por esta hipótese de trabalho, pois verificou-se que as plantas com brança tinham uma maior concentração de manganés nas folhas do que as sãs.

Como não dispomos ainda de uma instalação de ensaios em vasos, onde se pudesse sujeitar o arroz, em cultura em solução nutritiva, ao excesso de manganés, não nos foi possível verificar directamente os efeitos do excesso de manganés sobre a frutificação do arroz.

Entretanto houve factos que desviaram a nossa atenção para a possível influência de um outro elemento na ocorrência da brança.

No estudo bibliográfico que estavamos fazendo sobre as alte-

rações provocadas nas plantas por desequilíbrios na nutrição mineral, verificou-se que a descrição apresentada por RADEMACHER (cit. por BAUMEISTER, 1952) de certas formas de uma doença de carência da aveia, correspondiam, em parte, aos sintomas que tínhamos observado no arroz atacado de branca.

Esta doença da aveia, há muitos anos conhecida na Holanda e Alemanha, onde é designada respectivamente por «Ontginningsziekte» e «Urbarmachungskrankheit», foi estudada por vários autores, tendo sido, contudo, só encontrado o remédio adequado em 1922, quando HUDIG & MEYER (cit. por MULDER 1940) demonstraram que podia ser curada com aplicações de sulfato de cobre ao solo. Vários autores (MULDER, 1940; RADEMACHER, 1940) afirmaram mais tarde que se tratava de uma deficiência de cobre e não de um efeito secundário de sulfato de cobre sobre o solo. Esta doença foi até hoje encontrada na aveia e outros cereais em muitos países do mundo (PIPPER, 1942 b; STEINBERG, 1950), sendo nos países de língua inglesa designada por «Reclamation Disease».

Conforme os nomes indicam, trata-se de uma deficiência que aparece sobretudo quando se conquistam novos terrenos (mais frequentemente pântanos) para a cultura.

No exaustivo trabalho de MULDER (1940) sobre esta doença encontrámos várias observações de grande interesse para a questão em estudo e que são:

1) Nas plantas de aveia com ligeira deficiência de cobre formavam-se panículas normais mas sem grão.
2) Estas plantas, depois de ceifadas, mostravam maior rebentação das toiças que as plantas sem deficiência.
3) As plantas deficientes eram de uma cor verde mais escura que as normais e as folhas mais novas permaneciam enroladas aos colmos, destacando-se com dificuldade.
4) Quando a dificiência era mais severa havia uma paralização do crescimento das plantas e, como as folhas mais novas permaneciam enroladas ao colmo, as plantas ficavam com o aspecto da erva, apresentando-se secas as extremidades das folhas.

Os sintomas dados em 1), 2) e 3) correspondem aos de observação corrente para a branca. Os sintomas correspondentes à carência severa, 4), nunca os tínhamos porém visto no arroz, no

campo, nem encontrado referidos na literatura respeitante à brança.

Na continuação das visitas às regiões atacadas de brança tivemos porém a ocasião de observar, na herdade de Rio Frio, no Montijo, num solo arenoso, plantas de arroz que, na época em que deveriam estar a vergar com o peso do grão, se apresentavam atrofiadas e com aspecto herbáceo. Isto acontecia numa parte de um canteiro, havendo na outra parte do canteiro plantas com vários tamanhos, tendo as mais desenvolvidas formado panículas de aparência normal, mas estéreis.

Uma análise do teor de cobre do solo desse canteiro, feita por um método biológico referido adiante, revelou menos de 0,4 p. p. m. de cobre assimilável, o que é considerado por Mulder (1940) como insuficiente para o desenvolvimento de cereais.

Entusiasmados por estes factos e sabendo que vários autores (Willis & Piland, 1936) tinham verificado que no caso de deficiência de cobre as plantas têm tendência a absorver mais manganés do que normalmente, o que estava de acordo com a maior concentração de manganés do arroz com brança encontrada nas primeiras análises já feitas, passámos subsequentemente a considerar a deficiência de cobre como hipótese de trabalho na investigação da brança.

Uma vez definida esta outra hipótese de trabalho, que até certo ponto se conjuga com a primeira, tentámos pô-la à prova por meio de um plano experimental adequado o qual envolveu uma série de análises de plantas e de solos e a realização de ensaios de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

I — DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS

1 — *Análises do cobre no solo*

Dadas as dificuldades que se encontram normalmente na interpretação dos dados de análises químicas do solo, ao tentar relacionar esses dados com os quantitativos assimiláveis pelas plantas, encarávamos com pouco entusiasmo e análise química do cobre nos solos de arroz com e sem brança.

No estudo que fez sobre a doença de carência de cobre nos cereais, o autor holandês Mulder (1940) concebeu porém um método biológico muito prático para a análise do teor do solo em cobre, provando, ainda, que os resultados obtidos por esse método

estão em concordância com o comportamento, em relação ao cobre, dos cereais cultivados nos solos estudados.

Esse método baseia-se no facto de o fungo *Aspergillus niger* necessitar de cobre, embora em pequenas quantidades, para a formação de esporos pretos normais. Numa solução nutritiva isenta de cobre o crescimento do micélio é fraco, não se formando esporos. A adição de 0,2 γ de cobre por cada 40 ml da solução nutritiva dá já lugar a um crescimento normal de micélio, com formação de esporos amarelos; 1 γ de cobre no mesmo volume de solução nutritiva produz esporos cinzento-acastanhados, sendo necessários 2,5 γ nos 40 ml para a formação de esporos pretos normais.

Usando uma estirpe especial de *Aspergillus niger* — o *A. niger* 'Mulder' — obtêm-se, com concentrações crescentes de cobre na solução nutritiva, uma escala de cores dos esporos que serve de padrão para a determinação de quantidades desconhecidas de cobre existentes em substractos em que se cultive o fungo, pois a mesma quantidade de cobre produz sempre a mesma cor dos esporos.

Segundo as conclusões a que chegou Mulder (1940), os solos muito deficientes em cobre contêm menos de 0,4 γ de cobre por grama de solo seco ao ar; os solos medianamente deficientes contêm 0,6 a 1,2 γ por grama, sendo necessário um teor de mais de 2 γ de cobre por grama de solo para garantir um desenvolvimento normal de cereais. Estes números referem-se a quantidades de cobre assimiláveis pelo *A. niger*.

Usámos este método, modificado por Dole (1952), na análise do cobre em 5 amostras de solo da Herdade de Rio Frio (Montijo), colhidas em locais em que as plantas de arroz apresentaram vários graus de anormalidade. Para comparação analisámos mais solos, nomeadamente de três locais em que o arroz se desenvolvera normalmente.

As amostras de solo a analisar eram colhidas no solo alagado, mantidas mergulhadas na própria água até ao momento de serem secas na estufa a 30° C e imediatamente a seguir analisadas. Esta secagem antes da análise era necessária pois, no caso contrário, seria difícil uma pesagem rigorosa da amostra.

Como teremos ocasião de salientar mais adiante, esta secagem tem o inconveniente de aumentar o teor de cobre assimilável do solo, não se podendo assim avaliar as condições em que o cobre se encontra no solo alagado, em que há uma fixação deste elemento por bactérias anaeróbias.

2 — *Análises químicas das plantas de arroz*

No outono de 1955 colheram-se as partes aéreas de muitas plantas de arroz com e sem brança, na altura em que as plantas sem brança estavam em plena maturação. Para cada amostra colhiam-se cerca de 20 plantas, havendo a preocupação de, em cada par de amostras a comparar, colher a amostra de plantas com brança e a amostra de plantas sem brança em sítios o mais próximos possível um do outro.

Colheram-se 200 amostras (100 pares) em Abrantes (Herdade da Parrada), Palma (Herdade de Palma), Alcácer do Sal (Herdade da Ulmeira de Baixo) e no Montijo (Herdade de Rio Frio). Ao chegar ao laboratório secaram-se as plantas em estufa a 60° C, após o que se contou o número de plantas em cada amostra. O material foi depois moído num moinho Wiley, pesado e armazenado em frascos para ser analisado.

Consoante as possibilidades materiais, fizeram-se as análises seguintes: cobre, em todas as 200 amostras; ferro em 63 amostras, e, manganés, em 36 amostras.

Para a análise do cobre usou-se o método colorimétrico de Jenkins (1954), para o ferro usou-se o método do dipiridilo (Piper, 1942 a) e, para o manganés, usou-se o método do peroxidisulfato, de Folke Nydahl (1949).

II — ENSAIOS DE CAMPO

Para estudar a influência da alimentação mineral do arroz no aparecimento da brança, sobretudo quanto aos elementos mínimos, designadamente o cobre, realizaram-se ensaios de campo em Alcácer do Sal, Abrantes e Muge.

Em Alcácer do Sal, realizaram-se três ensaios, um em 1955 e dois em 1956; em Abrantes, um em 1955 e dois em 1956; e, em Muge, um em 1956.

A — *Ensaios em Alcácer do Sal*

a) — *Ensaio efectuado em 1955*

Localização

Instalou-se na Herdade da Ulmeira de Baixo, pertencente ao Sr. Joaquim Branco Núncio, um campo experimental. Escolheu-se este local em virtude de nele se ter manifestado a brança com

QUADRO I

Análise dos solos do campo de ensaios de 1955 e 1956 em Alcácer do Sal

Resultados das determinações de pH (em água; potenciómetro de Beckman) e do fósforo, potássio, cálcio e magnésio ditos «fàcilmente assimiláveis» (método de Truog-Hellige) em amostras colhidas nos talhões indicados.

Talhão	P	K	Ca	Mg	pH
1	Médio	Elevado	Baixo	Baixo	6,0
2	Muito baixo	»	Médio	Elevado	6,2
3	» »	»	»	Muito elevado	6,5
4	» »	»	»	» »	6,4
5	Médio	»	»	Médio	6,2
6	»	Muito elevado	Baixo	»	6,1
7	»	Elevado	»	Baixo	6,0
8	»	»	»	Médio	5,7
9	»	Muito elevado	»	Elevado	6,1
10	»	Elevado	»	Médio	6,0
11	»	Muito elevado	Médio	»	5,9
12	»	Elevado	Baixo	»	5,8
13	»	»	»	Baixo	5,7
14	»	Médio	»	Muito baixo	5,7
15	»	Elevado	»	Baixo	5,8
16	Muito baixo	»	»	Médio	6,0
17	Baixo	»	»	»	6,1
18	Muito baixo	»	»	»	6,1
19	» »	»	»	Baixo	5,9
20	Médio	»	»	Médio	6,0
21	»	Muito elevado	»	»	6,0
22	Baixo	» »	—	»	6,0
23	Médio	Elevado	Baixo	Baixo	5,9
24	»	»	»	Médio	6,2
25	Elevado	»	»	Baixo	5,9
26	Médio	»	»	Médio	5,9
27	»	»	»	»	6,1
28	»	»	»	»	6,0
29	»	»	»	Elevado	5,9
30	»	»	»	Muito elevado	6,1
31	Baixo	»	Médio	» »	6,4
32	Médio	»	Baixo	Médio	6,0
33	»	»	»	»	6,1
34	»	»	»	»	6,1
35	»	»	Muito baixo	Baixo	6,2
36	»	»	Baixo	Médio	6,2
37	»	»	»	»	6,2
38	»	»	»	»	6,1
39	»	»	»	»	6,1
40	»	»	»	»	6,1

intensidade invulgar durante anos sucessivos, o que levou ao abandono da cultura do arroz, por anti-económica.

Natureza do solo

Os solos são arenosos, ácidos, mal estruturados, seguidos de uma camada mais argilosa, que, a certa profundidade, apresenta sinais de hidromorfismo e, segundo a Carta dos Solos de Portugal do Plano de Fomento Agrário, são « Solos pardos sobre depósitos semelhantes a gredas ou materiais afins ».

No Quadro I indica-se o teor aproximado do solo em fósforo, potássio, cálcio e magnésio ditos « fàcilmente assimiláveis » (método Truog-Hellige) e o valor do pH (em água; potenciómetro de Beckman) em amostras colhidas nos talhões indicados. Verifica-se uma certa heterogeneidade no teor dos elementos determinados e um valor elevado para o potássio. O teor em cálcio é baixo e os valores do pH indicam uma acidez conveniente para a cultura.

Traçado

Ensaiaram-se 9 modalidades de adubação a dois níveis, perfazendo com a testemunha em total de 19 tratamentos. Duas repetições. Dimensões dos talhões entre 50 e 100 m^2. Arroz usado: 'Chinês'.

Além da adubação geral, extensiva a todos os canteiros, dada a seguir

Adubação de fundo:

sulfato de amónio	200 kg/ha
superfosfato de cal a 18 % . .	400 »

Adubações de cobertura:

sulfato de amónio	150 kg/ha
superfosfato de cal a 18 % . .	150 »

cada canteiro levou uma adubação suplementar, correspondente a cada modalidade apresentada no Quadro II.

Rega e drenagem

A rega e o esgoto eram independentes para cada talhão. A dotação de água era a suficiente para manter um nível constante com o mínimo de drenagem.

QUADRO II

Modalidades do ensaio efectuado em Alcácer do Sal em 1955

Designação da modalidade	Adubação empregada, além da adubação geral		
	Produto	kg/ha	
		1.º nível	2.º nível
Mineral completa	Sulfato de cobre	10	30
	Sulfato de zinco	10	30
	Sulfato de ferro	30	100
	Sulfato de manganés	30	100
	Sulfato de magnésio	100	300
	Sulfato de potássio	200	400
	Borato de sódio	3	10
	Molibdato de amónio	0,5	3
	Carbonato de cálcio	200	600
Estrumação e Mineral completa	Estrume de curral	20 000	40 000
	Sulfato de cobre	10	30
	Sulfato de zinco	10	30
	Sulfato de ferro	30	100
	Sulfato de manganés	30	100
	Sulfato de magnésio	100	300
	Sulfato de potássio	200	400
	Borato de sódio	3	10
	Molibdato de amónio	0,5	3
	Carbonato de cálcio	200	600
Cobre	Sulfato de cobre	10	30
Zinco	Sulfato de zinco	10	30
Ferro	Sulfato de ferro	30	100
Manganés	Sulfato de manganés	30	100
Boro	Borato de sódio	3	10
Molibdénio	Molibdato de amónio	0,5	3
Potássio	Sulfato de potássio	200	400
Testemunha			

Execução

A adubação geral de fundo, as aplicações dos adubos correspondentes às diversas modalidades e a plantação do arroz fizeram-se durante o mês de Maio. Em Junho fez-se a 1.ª monda e a adubação de cobertura. A 2.ª monda efectuou-se em Agosto e, em Setembro, a ceifa e a debulha.

Antes da colheita fizeram-se estimativas visuais das percentagens aproximadas de plantas atacadas pela brança em relação ao total de plantas de cada talhão. Esta estimativa foi por nós feita também em todos os outros ensaios de campo descritos adiante.

b) - ***Ensaio efectuado em 1956, nos mesmos talhões do ensaio de 1955***

Traçado

Adoptou-se o traçado em blocos casualizados compreendendo 4 repetições para cada um dos tratamentos. Como plantas de cultura usou-se o arroz 'Chinês'.

Modalidades ensaiadas

O ensaio foi implantado nos talhões usados no ensaio de 1955 mantendo-se a mesma distribuição das repetições. Eliminaram-se todavia os tratamentos com molibdénio e manganés isolados que foram substituídos pelo tratamento com cobre. Nestas condições as modalidades ensaiadas são as indicadas no Quadro III, onde a notação cobre/cobre, cobre/manganés, cobre/molibdénio, zinco/ /zinco, etc., designa os tratamentos feitos nos mesmos talhões respectivamente de 1956 e 1955. Assim cobre/manganés que os talhões que no ano de 1955 foram tratados com manganés receberam no ano de 1956 sulfato de cobre. Além disso modificaram-se as quantidades de sais correspondentes às várias modalidades.

Fertilização geral, rega e drenagem

As indicadas no ensaio de 1955.

Execução

Os trabalhos indicados no ensaio de 1955 e efectuados nos mesmos meses.

QUADRO III

Modalidades ensaiadas em 1956 em Alcácer do Sal nos mesmos talhões do ensaio de 1955

Designação da modalidade	Adubação empregada, além da adubação geral	
	Produto	kg/ha
Mineral completa	Sulfato de cobre	100
	Sulfato de zinco	30
	Sulfato de ferro	100
	Sulfato de manganés	100
	Sulfato de magnésio	300
	Sulfato de potássio	400
	Borato de sódio	10
	Molibdato de amónio	3
	Carbonato de cálcio	600
Estrumação e Mineral completa	Estrume de curral	40 000
	Sulfato de cobre	100
	Sulfato de zinco	30
	Sulfato de ferro	100
	Sulfato de manganés	100
	Sulfato de magnésio	300
	Sulfato de potássio	400
	Borato de sódio	10
	Molibdato de amónio	3
	Carbonato de cálcio	600
Cobre	Sulfato de cobre	100
Zinco	Sulfato de zinco	30
Boro	Borato de sódio	10
Potássio	Sulfato de potássio	400
Ferro	Sulfato de ferro	100
Testemunha		

c) — ***Ensaio efectuado em 1956 em 3 ha***

Em face dos efeitos do cobre observados no ensaio de 1955, delineou-se um grande ensaio só com este elemento.

Foi possível dispor de uma área de cerca de 3 ha situada na herdade da Ulmeira de Baixo, que reuniu as condições apropriadas para o ensaio. Neste terreno a branca tornara a cultura do arroz impraticável.

As modalidades foram: 100, 150 e 200 kg/ha de sulfato de cobre e a testemunha.

Adoptou-se o traçado em blocos casualizados, compreendendo 8 repetições para cada tratamento. As dimensões dos talhões variaram entre 500 m^2 e 1200 m^2. A rega e o esgoto de cada modalidade de adubação eram independentes.

Todos os talhões levaram a adubação de fundo usual de 200 kg/ha de sulfato de amónio e 400 kg/ha de superfosfato de cal a 18 % e, simultâneamente, fizeram-se aplicações de sulfato de cobre nos talhões correspondentes às várias modalidades.

A plantação efectuou-se em Maio, com arroz 'Chinês'. Em Junho fez-se uma cobertura geral com sulfato de amónio à razão de 150 kg/ha, depois da monda. Em Setembro procedeu-se à ceifa e à debulha, para apuramento da produção de grão.

B — *Ensaios em Abrantes*

a) — ***Ensaio efectuado em 1955***

Localização

Na Herdade da Parrada, em Abrantes, a Companhia União Fabril cedeu para ensaios cerca de meio hectare de terreno onde a cultura do arroz deixara de ser compensadora em virtude da intensidade e persistência da branca.

Natureza do solo

Os solos são arenosos, ácidos, assentes sobre camadas arenosas e derivadas de arenitos e, segundo a Carta dos Solos de Portugal do Plano de Fomento Agrário, são « Solos podzolizados, vermelhos e amarelos sobre arenitos ».

No Quadro IV registaram-se o pH (em água; potenciómetro de Beckman) e as quantidades de fósforo, potássio, cálcio e magnésio ditos «fàcilmente assimiláveis» (método Truog-Hellige) e de matéria orgânica (método do permanganato) determinados em

QUADRO IV

Análise dos solos do campo de ensaios de 1955 e 1956 em Abrantes

Resultados das determinações do pH (em água; potenciómetro de Beckman), da matéria orgânica (método do permanganato) e do fósforo, potássio, cálcio e magnésio ditos «fàcilmente assimiláveis» (método de Truog-Hellige) em amostras colhidas nos talhões indicados.

Talhão	P	K	Ca	Mg	pH	Mat. orgânica %
1	Muito elevado	Baixo	Baixo	Muito baixo	5,4	1,21
2	» »	Muito baixo	»	» »	5,5	1,32
3	» »	» »	»	» »	5,4	1,17
4	» »	» »	»	» »	5,4	1,30
5	» »	» »	»	» »	5,5	1,13
6	» »	» »	»	» »	5,5	1,38
7	» »	» »	»	» »	5,4	1,24
8	» »	» »	»	» »	5,4	1,42
9	» »	» »	»	» »	5,4	1,30
10	» »	» »	»	» »	5,5	1,30
11	» »	» »	»	» »	5,5	1,30
12	» »	» »	»	» »	5,8	1,05
13	» »	Baixo	»	» »	5,4	1,17
14	» »	Muito baixo	Muito baixo	» »	5,5	1,21

amostras de solo colhidas nos talhões indicados. O baixo teor em bases verificado pode ser atribuído à lavagem do solo, intensificada pela cultura repetida do arroz na mesma folha durante várias dezenas de anos. A elevada quantidade de fósforo presente pode em parte explicar-se como resultado directo das copiosas adubações fosfatadas aplicadas nos anos anteriores.

Culturas anteriores

Até 1952 neste terreno foi cultivado arroz com a seguinte fertilização:

Adubação de fundo:

cianamida cálcica	200 kg/ha
superfosfato de cal a 18 % . .	800 »

Adubação de cobertura:

superfosfato de cal a 18 % . .	150 kg/ha
sulfato de amónio	150 »

Nos anos de 1953 e 1954, abandonada a cultura de arroz por anti-económica, cultivou-se milho de regadio, com a seguinte fertilização:

Adubações de fundo:

sulfato de amónio	100 kg/ha
superfosfato de cal a 18 % . .	350 »
sulfato de potássio	75 »

Adubação de cobertura:

nitro-amoniacal	200 kg/ha

Preparação do terreno

Em 20 e 21 de Abril preparou-se o terreno para um ensaio de estudo das causas da brança, tendo-se efectuado uma lavoura e o nivelamento e armação de canteiros que ficaram agrupados em 14 talhões (esquadras), com rega e esgoto independentes.

Modalidades ensaiadas

No Quadro V indicam-se as modalidades ensaiadas.

Fertilização, extensiva a todos os talhões:

Adubação de fundo:

cianamida cálcica	200 kg/ha
superfosfato de cal a 18 % . .	»

Adubação de cobertura:

superfosfato de cal a 18 % . .	150 kg/ha
sulfato de amónio	150 »

QUADRO V

Modalidades ensaiadas em Abrantes, em 1955

Designação da modalidade	Adubação empregada, além da adubação geral		
	Produto	kg/ha	
		1.º nível	2.º nível
Mineral completa	Sulfato de cobre	10	30
	Sulfato de zinco	10	30
	Sulfato de ferro	30	100
	Sulfato de manganés	30	100
	Sulfato de potássio	200	400
	Sulfato de magnésio	100	300
	Borato de sódio	3	10
	Molibdato de amónio	0,5	3
	Carbonato de cálcio	200	600
Estrumação e Mineral completa	Estrume de curral	40 000	
	Sulfato de cobre	15	
	Sulfato de zinco	15	
	Sulfato de ferro	75	
	Sulfato de manganés	75	
	Sulfato de potássio	300	
	Sulfato de magnésio	200	
	Borato de sódio	7	
	Molibdato de amónio	1,5	
	Carbonato de cálcio	400	
Potássio	Sulfato de potássio	300	
Zinco	Sulfato de zinco	15	
Molibdénio	Molibdato de amónio	1,5	
Ferro	Sulfato de ferro	75	
Magnésio	Sulfato de magnésio	75	
Cobre	Sulfato de cobre	10	30
Boro	Borato de sódio	2	10
Testemunha			

Execução

Em 7 de Maio fez-se a adubação de fundo e em 13 aplicaram-se os adubos correspondentes às diversas modalidades ensaiadas; em 18 alagaram-se os canteiros e plantou-se arroz 'Chinês'. Em 21 de Junho fez-se a 1.ª monda e em 28 a adubação de cobertura; em 5 de Agosto a 2.ª monda; a 28 de Setembro a ceifa e a 30 a debulha.

b) — ***Ensaio efectuado em 1956, nos mesmos talhões do ensaio de 1955***

Modalidades ensaiadas

De acordo com as observações feitas no ensaio de 1955, passaram a ensaiar-se as modalidades dadas no Quadro VI.

Traçado

Para este ensaio adoptou-se o traçado em blocos casualizados compreendendo 5 repetições para cada um dos tratamentos. As dimensões dos talhões variavam entre 34 m^2 e 57 m^2. Empregou-se como planta de cultura o arroz 'Chinês'.

Rega

Rega e esgoto independentes para cada talhão. A dotação de água era a suficiente para manter nos talhões um nível constante, com um mínimo de drenagem.

Fertilização geral

Adubação de fundo:

cianamida cálcica	200 kg/ha
superfosfato de cal a 18 % . .	800 » (1)

Adubação de cobertura:

superfosfato de cal a 18 % . .	150 kg/ha (1)
sulfato de amónio	150 »

(1) Manteve-se a exagerada adubação fosfatada empregada normalmente na propriedade, para reproduzir exactamente as condições em que ocorria a branca.

QUADRO VI

Modalidades ensaiadas em Abrantes em 1956 nos mesmos talhões do ensaio de 1955

Designação da modalidade	Adubação empregada, além da adubação geral	
	Produtos	kg/ha
Cobre 100	Sulfato de cobre	100
Cobre 150	Sulfato de cobre	150
Cobre 200	Sulfato de cobre	200
Cobre e potássio	Sulfato de cobre	150
	Sulfato de potássio	300
Mineral completa	Sulfato de cobre	150
	Sulfato de zinco	30
	Sulfato de ferro	100
	Sulfato de manganés	100
	Borato de sódio	10
	Molibdato de amónio	3
	Sulfato de potássio	300
	Sulfato de magnésio	300
	Carbonato de cálcio	600
Estrumação e Mineral completa	Estrume de curral	40 000
	Sulfato de cobre	150
	Sulfato de zinco	30
	Sulfato de ferro	100
	Sulfato de manganés	100
	Borato de sódio	10
	Molibdato de amónio	3
	Sulfato de potássio	300
	Sulfato de magnésio	300
	Carbonato de cálcio	600
Testemunha		

Execução

Em Maio fez-se a adubação de fundo, aplicaram-se os adubos correspondentes às diversas modalidades ensaiadas e efectuou-se a plantação. Em Junho fez-se a 1.ª monda e a adubação de cobertura; em Agosto a 2.ª monda; em Setembro a ceifa e a debulha.

c) — ***Ensaio efectuado em 1956, para estudo do efeito do cobre associado à estrumação***

Como vários autores provaram (Mulder, 1940) que na presença de matéria orgânica em condições anaeróbias os microorganismos do solo fixam o cobre, quisemos verificar até que ponto este fenómeno poderia explicar a incidência da brança nas terras fortemente estrumadas. Nestas circunstâncias é de esperar que a adição de quantidades substanciais de cobre às terras naquelas condições possa corrigir, por saturação, o efeito de fixação apontado.

Afim de esclarecer este assunto delineou-se um ensaio preliminar, sem repetições, sendo uma modalidade o tratamento com 40 Ton./ha de estrume de curral e 100 kg/ha de sulfato de cobre, outra apenas com 40 Ton./ha de estrume de curral e a testemunha.

O ensaio foi implantado em três talhões ocupando uma extensão de cerca de 500 m^2 anexa aos talhões de experimentação sobre a brança, instalados na herdade da Parrada, em Abrantes, e em solo com as mesmas características do dos outros ensaios aí efectuados.

C — ***Ensaio efectuado em Muge em 1956***

Localização e natureza do solo

O ensaio foi implantado em terreno de várzea pertencente a uma propriedade da Casa Cadaval, incluído numa área de cerca de 180 hectares onde já se tinha tentado a cultura do arroz, sem êxito, em virtude do aparecimento persistente da brança. O solo, de textura arenosa, julga-se poder ser enquadrado no grupo designado por «Solos podzolizados, vermelhos e amarelos sobre arenitos», segundo a Carta dos Solos de Portugal do Plano de Fomento Agrário.

Traçado

Adoptou-se o traçado em blocos casualizados compreendendo 5 repetições para cada um dos tratamentos. Dimensões dos talhões: 20 m × 10 m. Usou-se com planta de cultura o arroz 'Alório'.

Rega e drenagem

Cada bloco compreendia 6 talhões separados 3 a 3 pelas valas de rega que conduziam a água directamente a cada talhão; separando os blocos ficavam as valas de drenagem, que recebiam a água de cada talhão.

Dotação de água

A quantidade suficiente para manter nos talhões um nível constante e apropriado, com um mínimo de drenagem.

Modalidades ensaiadas

No Quadro VII indicam-se as modalidades ensaiadas.

Execução

A plantação efectuou-se nos primeiros dias de Julho, portanto, muito tarde.

Como o ensaio ocupou um terreno de viveiro de arroz adubado no mesmo ano com 300 kg/ha de sulfato de amónio, reduziram-se as quantidades habituais de adubos para as seguintes: 150 kg/ha de sulfato de amónio e 200 kg/ha de superfosfato de cal a 18 %, distribuídos a lanço e enterrados em Julho e, 12 dias após a plantação, 150 kg/ha de sulfato de amónio em uma só cobertura. Estas adubações foram aplicadas a todos os talhões.

A monda foi efectuada em Agosto.

A ceifa foi executada em Novembro, sendo as plantas todas cortadas à mesma altura, incluindo as que não produziram grão. A fim de manter aproximadamente a mesma percentagem de humidade no material colhido em cada talhão houve o cuidado de deixar as plantas ceifadas a secar ao sol durante o mesmo período de tempo.

Depois de pesada a colheita de cada talhão procedeu-se imediatamente à debulha mecânica, em Novembro, para apuramento da produção de grão.

Em Agosto fizeram-se observações de campo em todos os talhões, para obter uma estimativa da intensidade do ataque da brança, calculando-se, aproximadamente, as percentagens de plantas atacadas.

QUADRO VII

Modalidades relativas ao ensaio efectuado em Muge, em 1956

Designação da modalidade	Adubação empregada, além da adubação geral	
	Produtos	kg/ha
Cobre	Sulfato de cobre	150
Cobre e Potássio	Sulfato de cobre	150
	Sulfato de potássio	300
Cobre e Estrumação	Sulfato de cobre	150
	Estrume de curral	40 000
Estrumação	Estrume de curral	40 000
Mineral completa	Sulfato de cobre	150
	Sulfato de zinco	30
	Sulfato de ferro	100
	Sulfato de manganés	100
	Borato de sódio	10
	Molibdato de amónio	3
	Sulfato de potássio	300
	Sulfato de magnésio	300
	Carbonato de cálcio	600
Testemunha		

RESULTADOS

I — DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS

1 — *Análises do solo*

Apresentam-se no Quadro VIII os resultados obtidos nas determinações do cobre do solo pelo método do *Aspergillus niger* 'Mulder'.

QUADRO VIII

Resultados das determinações do cobre do solo (método do Aspergillus niger*), efectuadas em amostras colhidas nos locais indicados*

Amostra N.º	Local	Estado das plantas de arroz no local da amostra, na época normal de maturação do arroz	Cobre assimilado pelo fungo mg Cu/ kg sol.
1	Rio Frio	Plantas de arroz anãs e com panículas estéreis.	0,7
2	Rio Frio	Plantas de arroz de maior estatura mas que não deram panículas.	0,3
3	Rio Frio	Plantas de arroz de maior estatura mas que não deram panículas.	1,2
4	Rio Frio	Plantas já com estatura normal, mas ainda com branca.	3,0
5	Rio Frio	Plantas já com estatura normal, mas ainda com branca.	4,6
6	Rio Frio	Plantas já com estatura normal, mas ainda com branca.	4,7
7	Rio Frio	Plantas de arroz granando normalmente	4,7
8	Rio Frio	Plantas de arroz granando normalmente	4,7
9	Salvaterra de Magos	Plantas de arroz granando normalmente	> 4

Na Estampa I podem ver-se as placas de Petri onde se cultivou o fungo sobre as amostras de solo 1, 2, 3 e 9 (3 repetições de cada), podendo ter-se uma ideia da intensidade de coloração dos esporos consoante o teor do solo em cobre.

Pode concluir-se que nos três locais em que as plantas de arroz apenas formaram panículas estéreis ou não deram panículas, o teor do solo em cobre era deficiente (menos de 2 γ Cu/g de solo). Em todos os outros locais as quantidades de cobre estão muito acima das indicadas como necessárias por Mulder (1940) para os cereais.

De estranhar seria, à primeira vista, o facto de as amostras 5 e 6, colhidas em locais de branca, possuirem um teor de cobre

razoável. Deve contudo notar-se que, como foi dito atrás, as amostras de solo tiveram de secar-se antes da análise. Esta secagem aumenta a quantidade de cobre assimilável, pois, nas condições anaeróbias prevalecentes nos arrozais, certas bactérias como o *Vibrio desulfuricans* e o *Bacillus coli* têm a propriedade de, na presença de matéria orgânica, fixar o cobre, tornando-o inassimilável pelas plantas superiores. Por isso, para o caso dos solos alagados, o valor da análise do cobre do solo, pelo método por nós usado, é muito limitado, só se podendo tirar conclusões nos casos de pobreza absoluta. Por tal razão não fizemos estas análises em todos os outros locais de branca por nós estudados.

Uma conclusão valiosa foi, porém, a de que os casos graves de anormalidade de desenvolvimento das plantas de arroz, em que não se chegaram a formar panículas, coincidiram com teores muito baixos de cobre no solo.

2 — *Análises químicas das plantas de arroz*

Os resultados das análises do cobre, ferro e manganés, expressos em concentração do elemento (p. p. m.) na matéria seca (parte aérea) e em peso do elemento por planta (parte aérea) de arroz (γ/planta) são apresentados no Quadro IX.

Ao examinar os resultados apresentados deve ter-se em mente que, como as plantas com branca não granaram é menor a matéria seca total por elas formada. Por isso, os resultados expressos em concentração de elementos na matéria seca são afectados pelo facto de haver nas plantas sãs, em virtude do seu maior peso, uma maior diluição de todos os elementos minerais, sendo portanto natural que haja menores concentrações de elementos minerais na parte aérea dessas plantas.

Para tentar obviar em parte a este inconveniente calculámos também os resultados em peso de elemento por planta (parte aérea) analisada. Contudo, também aqui, como não foi possível analisar as raízes, faz-se sentir ainda a influência de haver ou não formação de grão. De facto, durante a formação do grão, embora a absorção de elementos minerais do solo seja nula ou muito reduzida, há uma translocação dos minerais acumulados nas raízes para as folhas, caules e grão, havendo portanto um aumento do total de elementos minerais na parte aérea das plantas que formam

QUADRO IX

Resultados das análises efectuadas em plantas de arroz com e sem brança (médias)

Localidades onde se colheram as amostras	Cobre				Ferro				Manganés			
	Com brança		Sãs		Com brança		Sãs		Com brança		Sãs	
	p. p. m.	γ/Planta	p. p. m.	γ/Planta	p. p. m.	γ/Planta	p. p. m.	γ/Planta	p. p. m.	γ/Planta	p. p. m.	γ/Planta
Abrantes. . .	6,1	7,4	3,3	12,4	68	100	69	199	983	1 435	486	1 435
Palma. . . .	2,9	3,6	2,3	10,3	130	155	84	339	778	1 089	322	1 170
Alcácer do Sal.	3,2	3,6	3,0	11,6	87	101	88	292	467	558	181	602
Rio Frio . . .	5,8	8,8	4,2	14,9	456	610	114	385	603	837	292	809

grão. É por isso necessário ter em conta estes factos na comparação dos resultados apresentados.

Do exame dos dados referentes ao cobre verifica-se que nas partes aéreas das plantas sãs existe em média cerca do dobro da quantidade de cobre existente na parte aérea das plantas com brança, não se podendo contudo concluir, pelas razões apontadas, que nos casos onde ocorreu brança houve menos absorção de cobre do solo. Não é pois possível tirar qualquer conclusão destas análises.

Também para o ferro se verifica que das plantas colhidas em Abrantes, Palma e Alcácer do Sal, as que tinham brança contêm menos ferro do que as normais, donde, pelas razões já apontadas, não se pode tirar qualquer conclusão. Nas plantas colhidas em Rio Frio há, pelo contrário, uma grande acumulação de ferro nas plantas com brança, o que leva a concluir, com segurança, que nos locais de brança havia uma maior facilidade de absorção do ferro do solo, quer por existir aí maior quantidade de ferro assimilável, quer por interferência de qualquer outro factor que favorecesse a absorção do ferro pelas plantas doentes.

Os dados referentes às análises do manganés parecem-nos contudo bastante concludentes. De facto, as quantidades de manganés existentes nas partes aéreas das plantas sãs e doentes são aproximadamente as mesmas, apesar de as plantas sãs terem na sua parte aérea, em média, mais do dobro do peso da matéria seca existente nas partes aéreas das plantas doentes.

Vê-se pois que, apesar da translocação do manganés que, durante a formação do grão das plantas sãs, deve ter lugar da raiz para a parte aérea, o total de manganés na palha e grão destas plantas difere pouco do existente na palha das plantas doentes. *As plantas doentes tem pois mais acentuada tendência para absorver mais manganés do solo do que as sãs.*

Sabendo que o cobre no solo actua como antagonista do manganés, isto é, que a adição de cobre faz decrescer a absorção de manganés pelas plantas, a ponto de, com adições de cobre ao solo, se induzirem deficiências de manganés nas plantas, era de admitir, apenas a partir dos dados destas análises, que o cobre viesse a mostrar-se elemento importante no combate da brança, caso fosse o excesso de manganés o causador da doença.

II — ENSAIOS DE CAMPO

A — *Ensaios em Alcácer do Sal*

a) — *Ensaio efectuado em 1955*

No Quadro X apresentam-se as percentagens aproximadas de branca, determinadas por observação directa da cultura antes de efectuada a colheita, e as produções de grão obtidas em cada talhão, bem como as médias correspondentes a cada modalidade.

QUADRO X

Percentagem de branca e produção relativas ao ensaio efectuado em Alcácer do Sal em 1955

Modalidades	Bloco I		Bloco II		Média	
	Branca %	Produção kg/ha	Branca %	Produção kg/ha	Branca %	Produção kg/ha
1.º nível						
Cobre	10	3 921	60	828	35	2 375
Manganés	98	59	99	69	99	64
Molibdénio	99	0	96	70	98	35
Zinco	60	2 113	95	2 612	78	2 363
Boro	90	536	100	12	95	274
Ferro	98	120	85	739	92	430
Potássio	95	143	87	3 118	91	1 631
Estrumação e Mineral Completa	75	1 103	95	274	85	689
Mineral Completa	15	5337	98	230	57	2 789
2.º nível						
Cobre	75	1 219	37	2 264	56	1 742
Manganés	99	137	99	5	99	71
Molibdénio	99	60	99	11	99	36
Zinco	97	707	99	81	98	394
Boro	95	742	100	24	98	383
Ferro	99	12	90	879	95	446
Potássio	100	56	99	86	100	71
Estrumação e Mineral Completa	25	4 045	60	2 453	43	3 249
Mineral Completa	15	3 111	30	3 940	23	3 520
Testemunha	98	19	100	7	99	13

Dado o elevado erro experimental verificado no ensaio e suspeitando-se, além disto, da existência de erros cometidos na distribuição dos tratamentos pelos vários talhões, abandonaram-se por completo as conclusões que porventura pudessem ser fornecidas pela análise estatística dos resultados obtidos. Todavia verifica-se que as maiores produções corresponderam às modalidades: mineral completa, cobre, e, estrumação associada com a mineral completa, todas portanto contendo cobre. É interessante notar também que a produção média dos talhões que levaram cobre é cerca de 100 vezes superior à produção dos talhões-testemunha.

Os resultados animadores obtidos com o cobre neste ensaio, levaram-nos a repetí-lo no mesmo local no ano seguinte e a estendê-lo a outras regiões orizícolas, mas usando doses de cobre mais elevadas.

b) — ***Ensaio efectuado em 1956, nos mesmos talhões do ensaio de 1955***

Apresentam-se no Quadro XI as percentagens aproximadas de brança determinadas à vista e as produções de grão obtidas.

A análise estatística revela que, nas condições do ensaio, são altamente significativas, em relação ao tratamento testemunha, os tratamentos seguintes: estrumação + adubação mineral completa, adubação mineral completa e sulfato de cobre, quando este último foi aplicado nos talhões que no ensaio de 1955 foram adubados também com sulfato de cobre. Todavia este tratamento de sulfato de cobre aplicado nos talhões que no ensaio de 1955 foram tratados com manganés ou molibdénio, revelou-se apenas significativo em relação à testemunha.

As diferenças entre as produções médias da modalidade estrumação + adubação mineral completa e as das modalidades sulfato de cobre aplicadas em talhões tratados em 1955 com manganés ou molibdénio, são altamente significativas. Não é todavia significativa a diferença entre a produção média daquela mesma modalidade e a correspondente ao tratamento com sulfato de cobre aplicado nos talhões que no ano anterior tinham sido tratados com este mesmo sal.

Mostra a análise das percentagens do ataque de brança que as modalidades mineral completa e mineral completa associada à estrumação evitaram completamente este acidente fisiológico. O cobre aplicado isoladamente também actuou de maneira eficaz

principalmente na modalidade cobre/cobre. Parece portanto legítimo concluir que este elemento exerce uma acção muito importante no combate à brança do arroz.

Na Estampa II vê-se um aspecto geral do campo de ensaio e um aspecto de pormenor que mostra de uma forma bem patente a eficácia do tratamento com cobre, pois que enquanto no talhão tratado com este elemento as plantas se apresentam em plena frutificação tal não acontece no talhão testemunha onde é bem evidente a ausência de panículas.

QUADRO XI

Percentagem de brança e produção relativas ao ensaio efectuado em Alcácer do Sal em 1956

Modalidade	Bloco I		Bloco II		Bloco III		Bloco IV		Média	
	Brança %	Produção kg/ha	Brança %	Produção kg/ha	Brança %	Produção kg/ha	Brança %	Produção kg/ha	Brança %	Produção kg/ha
Cobre/cobre . . .	20	3 934	0	5 606	0	5 278	5	3 093	6	4 478
Cobre/manganés . .	30	1 744	10	4 032	20	3 053	20	3 361	20	3 048
Cobre/molibdénio . .	85	1 216	0	4 058	10	3 924	5	4 758	25	3 489
Zinco	60	1 445	50	5 000	95	947	90	3 860	73	2 816
Boro	40	1 452	100	0	100	0	90	1 343	82	699
Ferro	100	714	95	492	40	3 418	100	0	83	1 156
Potássio	70	2 625	0	6 200	90	1 628	100	0	65	2 613
Estrumação e Mineral completa . . .	0	5 698	0	6 447	0	6 731	0	6 900	0	6 444
Mineral completa . .	0	4 079	0	3 766	0	3 810	0	4 690	0	4 086
Testemunha	100	1 887	80	3 056	100	0	100	0	95	1 036

c) — ***Ensaio efectuado em 1956 em 3 ha***

No Quadro XII apresentam-se as percentagens de brança e as produções de grão obtidas.

A análise estatística revela que os efeitos dos vários tratamentos de cobre são altamente significativos em relação à testemunha.

Os aumentos de produção de grão obtidos com a aplicação de sulfato de cobre são de facto notáveis, não se verificando, todavia, existir qualquer diferença significativa entre as várias modalidades de adubação contendo aquela substância.

Importa, porém, fazer notar que estas modalidades de adubação se revelaram incapazes de reduzir a nível satisfatório a incidência da brança, conforme é patente no Quadro XII, onde se registaram, para cada modalidade ensaiada, as percentagens aproximadas de plantas atacadas em relação ao total de plantas, sendo estas percentagens obtidas por observação directa do estado da cultura, em cada um dos talhões, antes de efectuada a colheita.

QUADRO XII

Percentagem de brança e produção relativas ao ensaio efectuado em Alcácer do Sal no ano de 1956, em 3 ha

Bloco	Cobre 100		Cobre 150		Cobre 200		Testemunha	
	Brança %	Produção kg/ha	Brança %	Produção kg/ha	Brança %	Produção kg/ha	Brança %	Produção kg/ha
I	75	2 510	75	2 632	20	3 259	80	1 826
II	60	1 952	30	1 407	40	3 486	80	1 150
III	70	2 058	75	1 963	60	1 906	100	512
IV	80	842	90	1 463	85	1 407	100	347
V	80	714	100	792	70	400	80	596
VI	95	2 057	60	1 139	85	976	95	212
VII	70	1 567	20	2 478	20	2 350	95	1 116
VIII	70	1 430	60	2 448	70	2 150	100	729
Média	75	1 640	64	1 790	56	1 192	90	811

A intensidade média da incidência de brança para as modalidades consideradas foi superior a 50 % e não admira portanto que as médias da produção de grão correspondentes sejam nìtidamente inferiores à produção média de uma seara normal.

Na realidade, o solo em que se fez este ensaio é uma areia muitíssimo pobre, não sendo portanto de admirar que o cobre e a adubação normal de azoto e fósforo não possam, só por si, fazer alcançar uma produção normal.

Parece-nos, pois, legítimo concluir, sem esquecer, como é óbvio, as limitações impostas pelo carácter restricto da experimentação efectuada, que, embora o cobre se tenha revelado factor de importância incontestável no condicionamento da brança, não é contudo, neste caso, o único factor com importância no fenómeno. Aqui só

uma adubação mineral completa, tal como a empregada nos outros ensaios, evitará a ocorrência da branca.

B — *Ensaios em Abrantes*

a) — *Ensaio efectuado em 1955*

No Quadro XIII registaram-se as percentagens aproximadas de branca determinadas por observação directa do número de plantas com branca em relação ao total e as produções expressas em quilogramas por hectare.

QUADRO XIII

Produção (em kg/ha) relativa ao ensaio efectuado em Abrantes em 1955

Talhão	Modalidade	Grão	Palha	Total	Branca %
1	Ferro	673	4 433	5 106	98
2	Molibdénio	1 047	3 650	4 687	99
3	Cobre (1.º nível)	1 359	3 611	4 970	99
11	Cobre (2.º nível)	2 687	2 907	5 594	82
4	Potássio	2 567	4 092	6 659	85
5	Mineral completa (1.º nível)	2 809	3 362	6 171	87
13	Mineral completa (2.º nível)	3 422	2 978	6 400	80
6	Boro (1.º nível)	1 309	3 231	4 540	98
12	Boro (2.º nível)	2 028	3 200	5 228	96
7	Estrumação e Mineral completa	1 950	3 564	5 515	82
9	Zinco	1 801	3 816	5 617	98
10	Manganés	1 816	3 934	5 750	98
8	Testemunha	1 415	3 591	5 006	95
14	Testemunha	1 931	3 816	5 757	99

A análise do Quadro XIII parece mostrar que as produções totais, palha e grão, não diferem sensivelmente e que as produções de grão das modalidades mineral completa 1.º e 2.º níveis, cobre 2.º nível e potássio são bastante superiores às produções da testemunha, e que o ferro teve um efeito prejudicial.

A percentagem de branca mostra que nenhuma das modalidades de tratamento ensaiadas conseguiu evitar de maneira eficiente a doença. No entanto, as aplicações de cobre, potássio e

mineral completa parecem ter sido responsáveis pela redução do acidente fisiológico, chegando esta última modalidade a baixar a percentagem da doença para 80.

A falta de repetições não permite uma interpretação mais aprofundada.

Atribuímos os fracos resultados obtidos às baixas doses de sulfato de cobre (máximo 30 kg/ha) empregadas.

b) — ***Ensaio efectuado em 1956, nos mesmos talhões do ensaio de 1955***

No Quadro XIV registam-se as percentagens aproximadas de brança determinadas por observação directa no campo, tal como se fez no ano de 1955, e as produções expressas em quilogramas por hectare.

O erro experimental para a produção de grão é de 27 %, portanto exageradamente elevado, o que deveria tornar o ensaio inaceitável se não se tivesse encontrado o erro experimental de apenas 3 % para a produção total, o que pressupõe grande rigor na experimentação. Poderemos talvez explicar esta grande discrepância nos valores dos erros experimentais, pelo facto de as modalidades conduzirem a respostas muito dispares quanto à produção de grão.

A análise de variância mostra que, considerando a produção total (palha + grão), não existem diferenças significativas entre as modalidades ensaiadas mas que são altamente significativas as diferenças entre a testemunha e todas as modalidades, com a única excepção da do potássio, quando apreciadas as produções de grão. Podemos portanto concluir que todas as modalidades de adubação onde figura o cobre actuaram de maneira eficaz contra a brança, provocando um aumento da produção de grão.

Analisando as percentagens de brança, verifica-se que a doença, se não se tivesse feito qualquer tratamento, grassaria com grande intensidade por todo o campo do ensaio, como demonstram os valores encontrados nos talhões testemunhas.

O emprego da adubação mineral completa, quer isolada, quer associada à estrumação, evitou de forma satisfatória o aparecimento da doença, assim como a aplicação do cobre associado ao potássio e ainda o cobre isolado. Parece, portanto, poder admitir-se que a acção do cobre reduz apreciàvelmente a percentagem de brança.

QUADRO XIV

Percentagem de branca e produção (em kg/ha) relativas ao ensaio efectuado em Abrantes em 1956

Modalidade		Blocos I	II	III	IV	V	Média
Cobre 100	Grão	3 571	3 095	3 100	2 889	1 750	2 881
	Palha	8 333	8 333	8 000	6 667	5 500	7 367
	Total	11 904	11 428	11 100	9 556	7 250	10 248
	Branca %	35	5	70	40	10	32
Cobre 150	Grão	2 632	3 171	3 667	2 755	1 744	2 794
	Palha	8 596	9 268	8 889	5 714	4 651	7 423
	Total	11 228	12 439	12 556	8 469	6 305	10 217
	Branca %	40	15	15	5	30	35
Cobre 200	Grão	2 234	4 884	3 750	2 317	4 231	3 483
	Palha	8 511	9 303	5 250	5 366	6 154	6 916
	Total	10 745	14 186	9 000	7683	10 385	10 399
	Branca %	85	0	10	15	35	29
Cobre e potássio	Grão	2 907	2 794	3 500	2 024	2 976	2 840
	Palha	9 302	8 824	8 000	6 429	6 190	7 749
	Total	12 209	11 618	11 500	8 453	9 166	10 589
	Branca %	5	20	10	25	20	16
Estrumação e Mineral completa	Grão	3 488	4 468	2 996 (*)	2 625	4 167	3 549
	Palha	10 000	8 936	6 667	6 000	8 810	8 083
	Total	13 488	13 404	9 663	8 625	12 977	11 632
	Branca %	20	5	15	25	15	16
Mineral completa	Grão	3 488	3 171	4 130	2 320 (*)	4 268	3 475
	Palha	8 837	8 537	9 348	5 652	5 854	7 646
	Total	12 325	11 708	13 478	7 972	10 122	11 121
	Branca %	5	5	5	20	10	9
Potássio	Gaão	1 636	811	1 200	1 667	3 171	1 697
	Palha	8 727	8 108	10 200	6 667	5 854	7 911
	Total	10 363	8 919	11 400	8 334	9 025	9 608
	Branca %	85	98	35	70	30	64
Testemunha	Grão	1 020	1 711	1 333	769	1 667	1 300
	Palha	9 592	8 684	8 889	5 769	4 667	7 520
	Total	10 612	10 395	10 222	6 538	6 334	8 820
	Branca %	100	90	95	95	90	94

(*) Valores calculados.

c) — ***Ensaio efectuado em 1956 para estudo do efeito do cobre associado à estrumação***

Apresentam-se no Quadro XV as percentagens de brança observadas e as produções obtidas.

Embora os resultados confirmem a acção benéfica exercida pelo cobre quando associado à estrumação, já em relação a esta,

QUADRO XV

Modalidades, percentagens de brança e produções relativas ao ensaio efectuado em Abrantes em 1956

Designação da modalidade	Adubação empregada		Brança %	Produções (kg/ha)		
	Produto	kg/ha		Grão	Palha	Total
Estrumação e cobre	Estrume de curral Sulfato de cobre	40 000 100	30	2 419	5 814	8 233
Estrumação	Estrume de curral	40 000	60	1 667	6 458	8 125
Testemunha			95	629	5 346	5 975

considerada isoladamente, não é legítimo concluir que interfira desfavoràvelmente na cultura, provocando a intensificação dos ataques de brança.

C — *Ensaio efectuado em Muge em 1956*

No Quadro XVI registam-se as percentagens de brança e os resultados do ensaio.

Se considerarmos a data excessivamente tardia em que se procedeu à plantação, poderemos aceitar as produções de grão de algumas das modalidades como satisfatórias e esperar obter muito maiores produções, com as mesmas adubações, quando se efectuar a plantação na época normal.

A análise de variância dos dados obtidos mostra que são significativas as diferenças, quanto à produção de grão, dos tratamentos: cobre associado ao potássio e mineral completa, em relação à testemunha. Quanto à produção de palha, a única modalidade que apresenta diferença significativa em relação à testemunha é a

mineral completa. Pelo que diz respeito à produção total (palha e grão) não existem diferenças significativas entre os vários tratamentos.

QUADRO XVI

Percentagem de branca e produção (em kg/ha) relativas ao ensaio efectuado em Muge em 1956

Modalidade		Blocos I	II	III	IV	V	Média
Cobre	Grão	4 275	2 975	3 500	3 525	1 700	3 195
	Palha	5 175	3 775	4 850	4 075	4 900	4 555
	Total	9 450	6 750	8 350	7 600	6 600	7 750
	Branca %	20	35	20	20	65	32
Cobre e potássio	Grão	4 350	3 850	2 350	4 325	4 400	3 855
	Palha	5 050	4 200	5 200	3 725	4 650	4 565
	Total	9 400	8 050	7 550	8 050	9 050	8 420
	Branca %	0	20	65	20	20	25
Cobre e estrumação	Grão	2 850	2 167	2 400	1 275	1 225	1 983
	Palha	4 900	5 285	5 400	5 325	6 125	5 407
	Total	7 750	7 452	7 800	6 600	7 350	7 390
	Branca %	35	80	65	80	80	68
Estrumação	Grão	1 000	2 125	1 450	825	450	1 170
	Palha	4 850	5 025	5 300	5 125	8 050	5 270
	Total	5 850	7 150	6 750	5 950	6 500	6 440
	Branca %	80	80	80	80	80	80
Mineral completa	Grão	4 800	4 525	4 250	1 925	3 325	3 765
	Palha	3 600	3 975	4 500	5 075	4 575	4 345
	Total	8 400	8 500	8 750	7 000	7 900	8 110
	Branca %	0	0	20	50	20	18
Testemunha	Grão	1 875	2 350	3 800	3 200	1 650	2 575
	Palha	5 850	5 200	4 350	5 175	8 300	5 175
	Total	7 725	7 550	8 150	8 375	6 950	7 750
	Branca %	80	65	20	20	80	55

A análise estatística revela um erro experimental muito elevado, de 32 %, para a produção de grão, mas, para as produções de palha e total (palha + grão), este erro é, respectivamente, de 11 %

e 9 %, o que é aceitável. Este facto permite confiar no ensaio e o erro experimental de 32 % poder-se-á explicar por as modalidades conduzirem a respostas muito dispares quando avaliadas em peso de grão.

Deste ensaio parece poder concluir-se, tal como sucede em todos os outros ensaios efectuados, que as modalidades onde aparece o cobre têm efeito benéfico acentuado na produção de grão em terrenos onde grassa a brança.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Do trabalho experimental apresentado podem tirar-se duas conclusões principais:

1) — A adubação mineral completa empregada nos ensaios de campo evitou totalmente a brança ou reduziu-a de forma muito apreciável.
2) — Dos elementos minerais aplicados isoladamente, apenas o cobre mostrou, em todos os ensaios de campo realizados, um acentuado efeito na redução da brança, efeito que, por vezes, levou à eliminação total da doença (ver Estampa II).

Pode, assim, afirmar-se que nos casos de brança por nós estudados em Alcácer do Sal, Abrantes e Muge, este acidente fisiológico do arroz foi eficazmente controlado por meio de uma adubação mineral completa, em que o cobre desempenhou um papel preponderante.

Baseados nos resultados das análises laboratoriais e nos ensaios de campo, procurámos conjugar esses dados numa hipótese explicativa da ocorrência da brança, hipótese que servirá de guia na continuação do trabalho de investigação em curso.

Julgamos que a brança seja causada primàriamente por fenómenos de redução que têm lugar no solo, devidos à submersão contínua, vindo juntar-se a este efeito, no caso dos solos muito pobres, o da deficiência de vários elementos minerais, deficiência que gradualmente se agrava em consequência da lavagem que a rega por alagamento provoca.

É sabido, de facto, que ao alagar-se o solo durante períodos apreciáveis de tempo, certos microorganismos, na presença de matéria orgânica, reduzem vários constituintes do solo. A solução dos solos alagados aparece assim anormalmente rica em nitritos, sulfitos e sais manganosos e ferrosos (mais fàcilmente assimiláveis do que os mangânicos e férricos) chegando até, por vezes, a tornar-se tóxica para as plantas. Isto explicaria o facto, demonstrado pelas nossas análises, de as plantas com branca apresentarem, relativamente às sãs, uma maior tendência para a absorção de manganés.

O cobre, dada a sua posição na escala electroquímica, tem acentuado poder oxidante sobre o ferro, o manganés e muitos outros elementos, sendo o seu efeito, até certo ponto, semelhante ao do oxigénio. Assim, está provado que, quanto menos oxigénio se põe à diposição de uma planta, mais esta necessita de cobre, conforme demonstrou Arnon (1937). Compreende-se, deste modo, que, sendo a cultura do arroz feita em condições de mau arejamento, o cobre tenha uma importância especial e a sua falta se faça sentir mais do que no caso das plantas cultivadas em condições normais de arejamento.

O efeito benéfico do cobre no controle da branca é pois atribuído por nós ao abaixamento do potencial de oxidação-redução no solo e na planta, uma vez que o cobre provoca a oxidação de determinados elementos que se encontram na forma reduzida. Os sais manganosos e ferrosos, por exemplo, passariam, assim, a sais mangânicos e férricos, que são menos solúveis.

Pode contudo este efeito oxidante do cobre encontrar-se diminuído nos solos muito ricos em matéria orgânica devido à presença nestes, quando em condições anaeróbias, de certas bactérias como o *Vibrio desulfuricans* e o *Bacillus coli* que tornam aquele elemento inactivo pelo facto de promoverem a sua associação à matéria orgânica, em complexos vários. É, pois, de grande interesse conhecer a actividade química ou potencial do cobre no solo, e por isso temos em construção eléctrodos especiais de amalgama de cobre, que associados a um potenciómetro vulgar, nos permitirão medir a referida grandeza.

Nalguns casos de branca por nós estudados, a adição de cobre, só por si, não eliminou a doença, embora a reduzisse apreciàvelmente. Isto sucedeu no caso de solos arenosos e pobres em bases. É de prever que aqui, à acção das condições de redução no solo venha sobrepôr-se o efeito agravante de uma má nutrição geral.

As bases têm de facto, na planta, uma acção contrária ao manganés, por exemplo, que é, como já vimos, um dos elementos que existe em quantidades elevadas nas plantas com branca. Segundo Baumeister (1950) o efeito antagónico das bases sobre o manganés deve-se «à expulsão do manganés que se encontra adsorvido a coloides desconhecidos do palma».

Quando ocorre nos solos pobres, a branca agrava-se com os anos de cultura, por arrastamento dos elementos minerais não restituídos nas adubações. Nestes casos de branca em solos arenosos e pobres, só com uma adubação mineral completa se consegue eliminar o mal.

Quando a branca aparece em solos ricos em bases e muito ricos em matéria orgânica, o mal só se verifica, em geral, apenas nos primeiros anos de cultura. Quando um destes solos é alagado pela primeira vez, há fenómenos de redução muito intensos e libertação de vários produtos que se tornam solúveis e aparecem em concentrações anormalmente elevadas na solução do solo. Há também, conforme já foi dito, uma formação de complexos entre o cobre e a matéria orgânica, inactivando este elemento e diminuindo, portanto, a quantidade de cobre disponível para agir como oxidante no solo e nos tecidos das plantas.

Com a continuação do alagamento há arrastamento dos produtos de redução, bastante solúveis, e uma destruição e transformação da matéria orgânica e dos microorganismos. Os fenómenos de redução diminuem, pois, de intensidade e diminui também a absorção de produtos reduzidos, pela planta, pois estes produtos são arrastados nas águas de drenagem. Assim, por exemplo, têm sido encontrados depósitos de manganés, a certa profundidade, sob os arrozais.

É pois natural que, nestes casos, a branca desapareça com o tempo.

Em resumo, encaramos presentemente a causa do acidente fisiológico do arroz designado por branca, como sendo um desequilíbrio entre a absorção geral de minerais e a absorção de produtos de redução, resultantes do alagamento. Assim, esse acidente ocorre nos solos pobres, por ser deficiente a quantidade total de minerais, e ocorre nos solos ricos em minerais, se estes solos forem simultâneamente ricos em matéria orgânica e, portanto, com o alagamento, os fenómenos de redução atingirem intensidade desusada.

AGRADECIMENTOS

Entre as pessoas a quem são devidos os nossos agradecimentos é inteiramente justo particularizar o Eng. Agr. João Quintela Pessoa Lopes, não só por nos ter incitado a prosseguir o trabalho e pelo constante apoio que nos dispensou, como também pelas verbas que nos concedeu, para aquisição de aparelhos e custeio dos ensaios de campo, através da Repartição de Culturas Arvenses da Direcção Geral dos Serviços Agrícolas de que foi chefe até 1957. Pode afirmar-se que sem o seu auxílio, motivado pela compreensão e interesse que professa pelos problemas agronómicos nacionais, o nosso estudo ou nunca se teria efectivado ou teria ficado muito aquém do que seria desejável. Por tudo, pois, quanto lhe ficamos devendo, em estímulo e ajuda material, aqui deixamos exarado o público testemunho do nosso apreço e gratidão.

Estamos igualmente gratos ao Eng. Agr. António Lopes Ribeiro pelas suas intervenções e bons ofícios aos quais se devem muitas das facilidades que encontrámos.

Há também que apresentar os nossos agradecimentos ao Eng. Agr. Manuel Bobone pela sua acção prestimosa em mais de uma ocasião e pelo grande interesse com que acompanhou as nossas experiências, tal como ao Eng. Agr. Carlos da Costa Freire cujo carinho por este trabalho desejamos destacar.

Ao Sr. Joaquim Branco Núncio queremos agradecer a cedência não só do terreno onde instalámos os campos de ensaio em Alcácer do Sal, como a mão de obra necessária à execução das operações culturais.

À Companhia União Fabril, na pessoa do Chefe dos Serviços Agronómicos, Sr. Eng. Agr. Rafael Monjardino, agradecemos a valiosa oferta de adubos, a preparação de alguns adubos compostos e ainda a cedência dos terrenos para as experiências que efectuámos em Abrantes bem como a mão de obra para a sua realização.

Estamos também muito gratos ao Sr. Eng. Agr. Henrique de Sá Carneiro pela importante oferta dos adubos potássicos necessários às nossas experiências.

Queremos igualmente agradecer à Casa Cadaval a sua amável cooperação, facultando-nos terreno e mão de obra para os ensaios que efectuámos em Muge.

Desejamos ainda assinalar o interesse que os Professores

António Branquinho d'Oliveira e J. V. Botelho da Costa mostraram pelo nosso trabalho, inclusivamente deslocando-se ao campo conosco afim de efectuarem diversas observações sobre as plantas e solos de arrozais com branca.

É ainda de registar o nosso agradecimento ao Sr. Eng. Agr. Francisco Pereira Beija pelo facto de ter chamado a nossa atenção para a importância e necessidade de estudar esta doença.

Por último devemos ainda testemunhar o nosso reconhecimento ao Professor Fernando Carvalho Araújo por várias sugestões e críticas formuladas durante a preparação do original e ao Eng. Agr. Manuel Marques Gomes, autor das fotografias que figuram neste trabalho.

SUMMARY

The study of a physiological disease of rice, called «straighthead» in the United States, which seriously affects rice-fields in Portugal, was undertaken at the «Estação Agronómica Nacional», by the Department of Plant Physiology, in 1955, and has continued ever since. The work reported in the present paper concerns mainly the effects on this disease of several mineral elements applied to the soil either separately or in combination.

Straighthead has been attributed to various causes; *e. g.* an excess of nitrogen. According to most authors, however, straighthead is due to poor drainage of the soil. Thus, they recommend draining and drying the soil during certain periods of the growing season (preferably during the period prior to the jointing stage), in order to reduce or even control the effects of this disease. It should also be mentioned that some rice varieties have been reported in the United States as resistant to straighthead. The ultimate causes responsible for straighthead have not, however, been investigated.

Although the symptoms of straighthead are difficult to notice before the emergence of the panicles, it can, however, be observed, even at this early stage, that the leaves of affected plants are of a darker green than the leaves of normal plants.

Also the diseased plants show a greater number of coarse roots or water roots and a smaller number of secondary roots and root hairs as compared with normal plants (Tiesdale & Jenkins, 1921). The panicles of the rice plants affected by straighthead

remain upright at maturity as little or no grain has been formed, while the normal plants bend down their panicles due to the weight of the grains.

Affected plants remain vegetative after the normal plants reach maturity and frequently produce tillers at the lower nodes.

Earlier on, in the course of the research on straighthead conducted by the writers, they were struck by the similarity of some of the symptoms associated with straighthead and some symptoms described by several authors (Mulder, 1940; Baumeister, 1952) as characteristic of the Reclamation Disease of oats. The latter is a physiological disease due to deficiency of copper in the soil (Piper, 1942 b; Steinberg, 1950).

The symptoms that apparently can be considered as common to both diseases are as follows:

1) — Little or no grain is formed in both cases, even when affected plants grow up normally, and the straw yield is not under average.
2) — The leaves of the affected plants are of a darker green than those of the normal plants.
3) — The leaves of the diseased plants adhere closely to the stem and are difficult to detach.
4) — The affected plants remain vegetative after the normal plants have ripened and generally produce tillers.

The possibility of both diseases being due to the same cause or causes was accordingly considered by the authors as a working hypothesis.

In order to test this hypothesis, an experimental plan was drawn up and carried out. This included the determination of copper in a few soils as well as the determination of this element and others in plant material, and also the performance of a set of field trials.

The determination of copper in the soil was made by a biological method developped by Mulder (1940). In this method copper is determined with the aid of the fungus *Aspergillus niger*, whose colour of the spores depends on the copper content of the substrate.

Table VIII shows the results of the copper determinations in various soils. Three sandy soils where straighthead was very serious, so that rice panicles failed to emerge from the boot,

showed a very low copper content (less than 1.2 p.p.m. Cu available by the fungus, that is below the lowest level given by MULDER as necessary for cereals: 2 p.p.m. Cu). But, in other soils, where rice plants grew apparently normally but formed no seeds, the copper content of the soil was comparatively higher (more than 4 p.p.m. Cu); an amount of copper of the same order of magnitude was also found in soils not subject to straighthead.

However, as the soil samples were air dried before analysis and as aeration releases the copper that in logged soils is bound to organic matter, the only permissible conclusion to draw from the results given in Table VIII is that the soils showing a very low amount of available copper (three sandy soils referred to above) must undoubtedly be very deficient in this element.

One hundred pairs of samples of rice plants (roots excluded) were collected in fields where straighthead ocurred; each pair was composed of one sample of about twenty normal rice plants and one sample of a similar number of rice plants affected by straighthead; both samples being collected as closely to each other as possible.

In all the 200 samples copper was measured by the colorimetric method of JENKINS (1954); furthermore, iron determinations were also carried out in 63 samples by the dipyridyl method (PIPER, 1942 *a*), as well as manganese determinations in 36 samples by the peroxidisulphate method of NYDAHL (1949). The results of the analysis expressed both as a percentage of the dry matter and as total amount per plant (roots excluded) are given in Table IX.

When the results are expressed as concentration of the element (on a dry matter basis) the figures for straighthead plants are generally higher (in the case of manganese much higher) than for normal plants.

On the other hand when the results of the analysis are expressed as the amount of the element considered per plant analysed (roots excluded) it is seen that straighthead plants contain a smaller amount of all the elements determined apart from manganese. Manganese exists approximately in the same absolute quantities in the normal as well as in the abnormal rice plants. In the case of iron there is an exception to be noted: it refers to the plants collected in Rio Frio, for which the amount of iron per straighthead plant is greater than the amount of this element per healthy plant.

To discuss the results presented in this Table one must bear in mind that the normal plants produce more dry matter (nearly the double) than straighthead plants which do not form seeds. This may account for the greater concentration of copper, iron and manganese found in straighthead plants as compared with normal plants, in which the greater quantity of dry matter formed tends to «dilute» the minerals absorbed from the soil (volume effect). The amount of copper, iron and manganese found per plant gives a picture closer to reality. Nevertheless, as the roots have been excluded from the analysis, and as there is a translocation of minerals from roots to shoots during grain formation, this tends to increase the amount of minerals in the tops of normal rice plants. Bearing these facts in mind, it seems that the only valid conclusion that can be drawn from the analysis made is that there is a marked tendency in straighthead plants to absorb greater amounts of manganese from the soil, than in normal plants.

In 1955 two field experiments were carried out in order to see whether or not copper or any other essential element, or combination of essential elements, could bring down or even eliminate straighthead. The plots of both experiments were set up on acid sandy soils where straighthead was very serious, one at Alcácer do Sal and the other at Abrantes.

Besides the amounts of phosphorus and nitrogen that were being used by the local farmers — 550 kg/ha superphosphate and 350 kg/ha ammonium sulphate at Alcácer do Sal, and 350 kg/ha superphosphate, 200 kg/ha ammonium sulphate at Abrantes — fertilizer treatments were made including K, Mg, Ca, Fe, Mn, Cu, Zn, B and Mo, applied to the soil both separately and in combination (and in one treatment all together plus farmyard manure), according to the modalities given in Table III for Alcácer do Sal and in Table V for Abrantes.

The results, expressed in percentage of straighthead and in grain yield are given in Table X for Alcácer do Sal and in Table XIII for Abrantes.

From the results obtained in Alcácer do Sal it may be seen that the greater yields corresponded to the treatments including copper, the yield of the plots where copper sulphate was applied to the soil being roughly one hundred times higher than the yield of the control plots, that had received only nitrogen and phosphorus.

At Abrantes, none of the fertilizer treatments applied could

control straighthead to a marked degree. Nevertheless, the greater reductions in the percentage of straighthead corresponded again to the plots where copper had been applied to the soil.

From these results the authors concluded that copper had an effect on the control of straighthead, but the amount applied in that year (highest rate 30 kg/ha copper sulphate) had to be increased. Therefore, new field trials were carried out in 1956, at the same farms in Alcácer do Sal and Abrantes and at a new place, Muge, in a large area of sandy soil which was to a great extent subject to straighthead. The field fertilizer trials conducted in that year included two experiments at Alcácer do Sal, two at Abrantes, and one at Muge.

One of the experiments at Alcácer do Sal was set up in the same plots of 1955, though including bigger dosis of Cu, Zn, B, K and Fe (see Table III). The copper dosis was increased to 100 kg/ha copper sulphate and the treatments with Mo and Mn, that in 1955 had shown no effect, were replaced by treatments with copper, so as to increase the number of replications for this modality.

The results, expressed in percentage of straighthead and in grain yield are given in Table XI. These results show that in the plots where all the mineral elements were applied together (N, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Fe, Cu, Zn, B, Mo) and these plus farmyard manure, straighthead disappeared completely. Furthermore, the treatment with copper sulphate alone (besides basic treatment with N and P) reduced very considerably the occurrence of straighthead; the plots receiving this treatment were in some cases completely free of the disease. In Plate II a general view of the field at the time of maturity of the normal plants is given and two plots of this field are shown, the one on the left having received only copper sulphate (besides N and P) and the one on the right being the control plot.

The other experiment at Alcácer do Sal conducted in this same year of 1956 covered an area of three hectars, and, besides the basic treatment with nitrogen and phosphorus, included three treatments with copper sulphate, namely, 100 kg/ha, 150 kg/ha, and 200 kg/ha. The soil where this experiment was set up was a sandy soil from which minerals had been leached to a great extent. The results of this experiment are presented in Table XII, expressed

as usually in percentage of straighthead and in yield per hectare. The treatments with copper on the average doubled the yields, but the percentage of straighthead was still high in the treated plots. The soil was so poor that only a complete mineral fertilization would probably have been effective in preventing the disease.

One of the two field experiments performed at Abrantes in this year of 1956 was limited to two treatments, namely farmyard manure (40 Tons/ha) and farmyard manure (40 Tons/ha) plus copper sulphate (100 kg/ha), since it is a common belief in this country that the addition to the soil of farmyard manure tends to increase the incidence of straighthead. The results of this field trial (see Table IV) show that the application of farmyard manure did not induce a comparatively higher percentage of straighthead. The yield obtained with farmyard manure plus copper sulphate was 50 % higher than the yield obtained with farmyard manure alone. The treatment with copper reduced very substantially the occurrence of straighthead.

The other experiments conducted in this same year (1956) at Abrantes and Muge comprised as treatments the addition to the soil of copper, of copper plus potassium, of a mineral fertilizer including K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, B, and Mo, and of this fertilizer plus farmyard manure (the amounts applied in every treatment are given in Table VI for Abrantes and in Table VII for Muge). The rates of application of minerals in 1956 were higher than in 1955. The smallest amount of copper sulphate applied in 1956 was as high as 100 kg/ha.

It must be pointed out that besides these treatments in both experiments all the plots received nitrogen and phosphorus in the amounts used by local farmers.

The results of these two field trials, given, as usual, in percentage of straighthead and in yield per hectare are presented in Table XIV for Abrantes and in Table XVI for Muge.

From these results as well as from the results of all other field trials conducted in 1956 it seems permissible to conclude that:

1) — The mineral fertilization including the essential elements N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn, B and Mo, either eliminated completely or reduced to a satisfactory extent the occurrence of straighthead.

2) — Of the mineral elements applied separately only copper showed in every case a very marked effect in reducing the occurrence of straighthead. In some cases the disease was even totally prevented by the addition of that element.

The results both from the chemical analysis and the field trials seem to support the assumption that straighthead arises from the state of reduction in which are bound to exist the elements present in soils which are subjected to continuous irrigation. When a soil cultivated in normal conditions of aeration is sown to rice and continuously flooded, certain microorganisms, *e. g. Vibrio desulfuricans* and *Bacillus coli*, in the presence of soil organic matter reduce several soil substances. In addition, these organisms, under the anaerobic conditions prevailing, bind the copper to the organic matter, rendering it unavailable to plants, as has been proved by Mulder (1940).

Due to the reduction reations the soil solution is abnormally enriched in nitrites, sulphites, and ferrous and manganous salts, the concentrations of these being sometimes big enough to cause toxicity. This is possibly, the reason for the great concentrations of manganese found in straighthead plants, as compared with normal plants.

Copper, due to its position in the electromotive series of metals, has a marked oxidizing effect on iron, manganese and many other elements. The effect shown by copper in the prevention of straighthead might thus be attributed to its oxidizing power, mainly in the soil but possibly also in the plant.

The authors observed the occurrence of straighthead both in soils rich in minerals (when they are very rich in organic matter and have been flooded recently) and in sandy soils, poor in minerals. In the first case straighthead disappears naturally after a few years, which on our assumption could be ascribed both to a decrease in the amount of soil organic matter and in the number of soil microorganisms, and to the leaching of the reduction products (more soluble). In the case of poor soils, as was the case with the soils in which our field trials were conducted, straighthead generally becomes more serious with time, what can reasonably be attributed to leaching of essential elements not replaced by manuring.

In every case of straighthead studied, copper showed strikingly good effect in the prevention of this physiological disturbance. However, in the case of very poor soils copper alone was not enough to prevent the disease totally. In these soils, owing to the generalized mineral deficiency prevailing, only the mixture of all essential elements used in the authors experiments prevented the occurrence of straighthead.

The main conclusion to derive from the work conducted by the present writers is that, besides the timely draining and drying of the soil, claimed by other authors as an effective method of controlling straighthead, this physiological disease of rice can be prevented by an adequate inorganic manuring, where copper plays an outstanding role. The writers believe that the study of this role will eventually unravel the ultimate cause responsible for straighthead.

BIBLIOGRAFIA

ARNON, D. I.
1937 Ammonium and nitrate nitrogen nutrition of barley in relation to hydrogen-ion concentration, manganese, copper and oxigen supply. *Soil Sci.* **44**: 91-121.

BAUMEISTER, W.
1952 *Mineralstoffe und Pflanzenwachstum.* Gustav Fischer, Jena.

DAWSON, J. E. & NAIR, C. K. N.
1950 The chemical nature of copper complexes in peat soils and plants (in A *symposium on copper metabolism,* 315-333) — John Hopkins Press, Baltimore.

DOLE, M. W.
1952 The *Aspergillus niger* method for determining copper in soils. *Soil Sci.* **75**: 135-147.

GRAÇA, CELESTINO
1941 *a* As culturas regadas e a «branca» do arroz. *Granja, Lisboa,* **2** (2): 46-52.
1941 *b* Outra versão sobre a «branca» do arroz. *Granja, Lisbou,* **2** (2): 53-58.
1942 Outra vez a «branca» do arroz. *Granja, Lisboa,* **2** (6): 161-180.

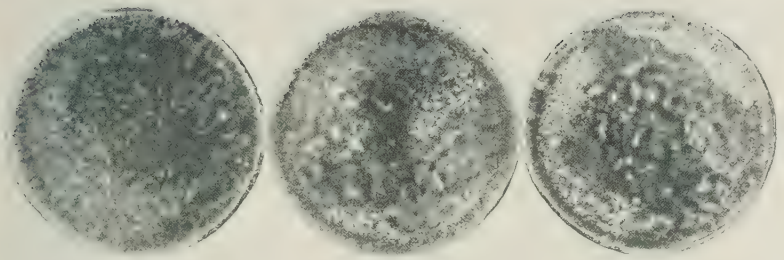
JENKINS, E. N.
1954 The absorptiometric determination of traces of copper in highly purified water. *Analyst,* **79**: 209.

KAPP, L. C.
1938 Rice nutrition. *Bull. Ark. agric. Exp. Sta.* **351**.

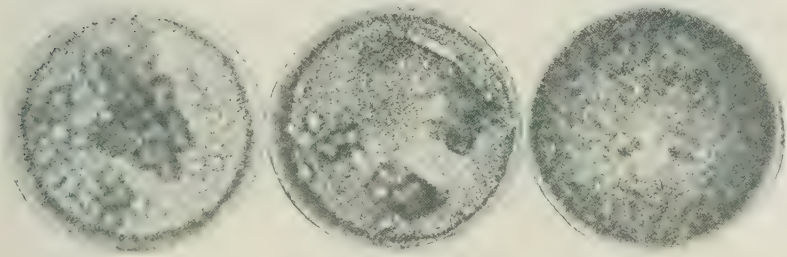
MANN, P. J. G. & QUASTEL, J. H.
1946 Manganese metabolism in soils. *Nature, Lond.* **158**: 154-156.

MULDER, E. G.
1940 Über den Kupfermangel als Ursache der Urbarmachungskrankheit. *Z. PflKrankh.* **50**: 230-264.

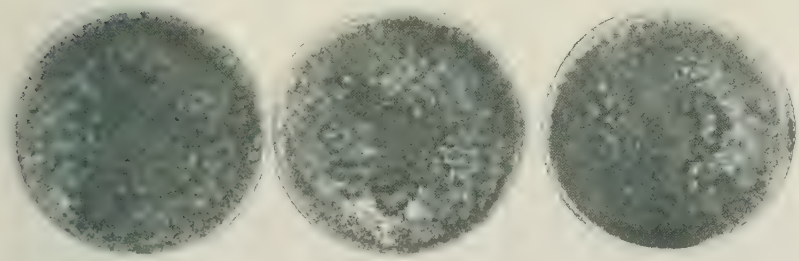
NYDAHL, F.
1949 The determination of manganese by the peroxidisulphate method. *Analyt. Chim. acta*, **3**: 144-157.
PADWICK, G. W.
1950 *Manual of rice diseases*. The Commonwealth Mycological Inst., Kew Surrey.
PIPER, C. S.
1942*a* *Soil and plant analysis*. The University of Adelaide, Adelaide.
1942*b* Investigations on copper deficiency in plants. *J. agric. Sci.* **32**: 143-178.
RADAMACHER, B.
1940 Über die Veränderungen des Kupfergehaltes, den Verlauf der Kupferaufnahme und der Kupferentzug beim Hafer. *Bodenk. u. PflErnähr.* **18**: 80-108.
ROBINSON, W. O.
1930 Some chemical phases of submerged soil conditions. *Soil Sci.* **30**: 197-217.
RODRIGUES, F. J. ROSA
1949 *A Brança — Subsídios para o seu estudo nos arrozais portugueses*. Relatório Final do curso de Engenheiro Agrónomo, (Mimeogr.), Lisboa.
ROSA, J. C.
1941 A «Brança dos arrozais». *Granja, Lisboa*, **2** (3): 65-78.
SILVEIRINHA, R.
1942 A potassa e a «brança» do arroz. *Granja, Lisboa*, **2** (7): 199-204.
STEINBERG, R. A.
1950 The copper nutrition of plants and green fungi. (in A *symposium on copper metabolism*, 115-137) — John Hopkins Press, Baltimore.
TIESDALE, W. H. & JENKINS, J. M.
1921 Straighthead of rice and its control. *Frms' Bull. U. S. Dep. Agric.* **1212**.
WILLIS, L. G. & PILAND, J. R.
1936 The function of copper in soils and its relation to the availability of iron and manganese. *J. agric. Res.* **52**: 467-476.



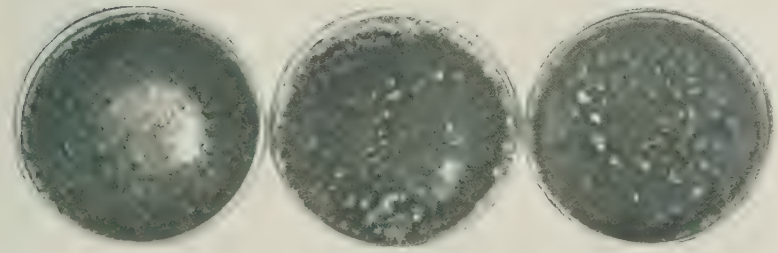
Solo 1



Solo 2



Solo 3



Solo 9

Fig. 1 — Determinação do cobre do solo por meio do *Aspergillus niger.*

Fig. 2
Vista geral do campo de ensaio em Alcácer do Sal (1956)

Fig. 3

INFLUÊNCIA DO pH NAS FERMENTAÇÕES VÍNICAS [1]

POR

OCTÁVIO PATO
(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUÇÃO

SABE-SE que os ácidos voláteis desenvolvidos durante a fermentação vínica são consequência de vários factores que intervêm no decorrer do fenómeno.

KAYSER, segundo a citação de P. BRAVO & D. DE OLIVEIRA (1), operando sobre mostos de cevada acidificados, pôde verificar que uma acidez total elevada favorece a produção desses ácidos, dependendo o seu teor inclusivamente da natureza do ácido fixo predominante.

VENTRE [(6), 1: 95 e 2: 13] observou que a quantidade de ácidos voláteis aumenta quando a levedura parece sofrer, portanto quando as condições do meio se lhe tornam desfavoráveis, e referindo-se ao ácido acético — o mais importante do grupo dos ácidos voláteis — cita-o como produto normal das fermentações vínicas, variando as suas percentagens com a espécie e a estirpe da levedura.

De acordo com o exposto e sabendo-se ainda que o ácido acético pode resultar também da oxidação do álcool, justificam-se assim, como produto inevitável das fermentações mesmo operadas sobre massas sãs, teores de acidez volátil que podem ir até 10 miliequivalentes por litro (0,6 gramas em ácido acético).

Mas é à actividade bacteriana que na verdade se devem os elevados teores de ácidos voláteis que se encontram nos vinhos.

---

[1] Trabalho efectuado no Departamento de Química Agrícola.

E com o fim de contrariar esta actividade, sobretudo a da volta e a da manite, preconiza-se (4) o reforço do mosto em ácidos fixos, por forma que o seu pH baixe a um limite não tolerado pelas bactérias. Na própria sulfitação antecipada das massas nós temos em vista também a protecção dos ácidos fixos, o que se consegue pelo facto de o SO_2 obstar, respectivamente como anti-séptico e e como selectivo, ao desenvolvimento das bactérias e das leveduras que os destroem.

Mas, se por um lado se impõe o aumento da acidez fixa dos mostos como garantia contra a produção intensa dos ácidos voláteis que resultaria do trabalho bacteriano no seu seio, por outro, a riqueza desses mostos em acidez fixa (ou, seja, um pH baixo) contraria a vida das leveduras alcoólicas levando-as a produzir mais ácidos voláteis, de acordo, por exemplo, com a observação de KAYSER.

Surge então, naturalmente, o problema de saber se não haverá vantagem de efectuar a correcção ácida, não no início da fermentação, mas na altura do envasilhamento.

Nesta ordem de ideias procurou-se, através o presente trabalho, conhecer a relação entre o teor dos ácidos voláteis desenvolvidos nas *fermentações sãs* e o pH do meio, o que nos permitiria contribuir para a solução do problema que se pôs.

MATERIAL E TÉCNICA

O ensaio realizou-se em 36 garrafões de 10 litros, tapados com rolhas de algodão, com mosto da colheita de 1957, não sulfitado, cujo pH inicial era de 3,4 (aliás 3,37), produzido no Posto Vitivinícola de Dois Portos.

Operou-se do seguinte modo: esmagaram-se uvas brancas no lagar e recolheram-se numa tina cerca de 400 litros de mosto, cujo pH, acidez total e densidade se determinaram depois de homogeneizado. Recolheu-se numa celha, de cada vez, o mosto, suficiente para o enchimento de 6 garrafões. Ajustado o pH para um limite desejado, cada grupo de 2 garrafões recebeu um fermento diferente, prèviamente preparado.

Adoptaram-se 6 valores de pH com limites aproximados de 2,8 e 3,8 e com diferença de cerca de 0,2 entre valores consecutivos.

Os 3 fermentos usados, que designamos:

F. M. — Fermento-mistura da região
F. 31 B_2 — Fermento obtido de uma levedura de Bucelas
F. 74 T_5 — Fermento obtido de uma levedura do Cartaxo,

foram preparados, o primeiro a partir das leveduras regionais não seleccionadas, e os restantes a partir de leveduras isoladas no Laboratório de Microbiologia do Instituto Superior de Agronomia. Adicionou-se cada um dos 3 fermentos a 5 litros de mosto, dos quais se foram retirando, após a plena actividade fermentativa, 0,4 litros para cada um dos garrafões, perfazendo-se depois o volume de 9 litros.

A variação dos valores experimentais de pH fez-se por adição de ácido tartárico até 3,4 e de leite de cal de 3,4 a 3,8.

Preenchidos os 36 garrafões nas condições experimentais referidas, determinou-se no mosto contido em cada um deles o valor do pH e da acidez total, dispondo-se, a seguir, num recinto de temperatura mais ou menos constante.

As temperaturas do líquido, observadas no decorrer das fermentações do presente ensaio, variaram entre 20 a 25° C, temperaturas que não se registam normalmente na prática, embora sejam favoráveis à fermentação sem todavia serem óptimas para as leveduras. E, por isso, admitimos que, se não favorecem o trabalho das leveduras, visto que estas operam melhor entre 30 e 35°, também não são de molde a favorecer a vida bacteriana, que é mais activa a temperaturas superiores a 33°. Este pormenor será considerado num ensaio apropriado ao seu estudo que tencionamos levar a efeito, adoptando-se então temperaturas vizinhas de 35° C.

Depois de eliminado o gás carbónico pela suave aplicação de baixas pressões, como recomendava Jaulmes, segundo se lê em Ribéreau-Gayon & Peynaud (5), doseou-se a acidez volátil por meio do aparelho de Casenave e a acidez total por titulação electrométrica.

Doseou-se o álcool por destilação e o açúcar pelo método de Soxhlet, segundo a técnica descrita nos Métodos Oficiais (2), e o azoto pelo método de Kjeldahl usando o sulfato de cobre.

A glicerina determinou-se pelo método de Fleury e Lange, de acordo com a modificação introduzida por Lencastre (3) e o amoníaco pelo método de Boussingault conforme foi descrito por Ribéreau-Gayon & Peynaud (5).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como atrás se disse, o ensaio fez-se sempre em duplicado e, sendo os resultados geralmente concordantes, os números que se publicam traduzem a sua média.

Tempo de fermentação

No nosso ensaio, a duração da fermentação, isto é, o tempo gasto para que as leveduras consumam todo o açúcar, estaria dependente, por um lado, da estirpe, nos casos de leveduras diferentes em mosto de igual pH, e por outro, da reacção ácida do meio, nos casos de mostos em que o pH varia, trabalhados pela mesma levedura.

O ritmo de fermentação em cada modalidade não foi igual, certamente devido à diferenciação fisiológica das leveduras:

F. M. — 4 dias, em qualquer das modalidades de pH
F. 31 B_2 — 5 » » » » » » »
F. 74 T_5 — 4 » a pH de 3,19 a 3,68
7 » a pH 3,0
9 » a pH 2,84

Reparando na marcha da fermentação através a variação da densidade determinada por meio do mustímetro Dujardin-Salleron (Quadro I) verifica-se que:

1.° — De início, a actividade fermentativa de todas as leveduras foi nìtidamente influenciada pela reacção do meio, influência que se exerceu na razão directa da concentração hidrogeniónica.

2.° — As leveduras não gosam do mesmo grau de adaptação. Assim, a levedura F. 74 T_5, que revelou nas modalidades de pH igual ou superior a 3,19, actividade fermentativa idêntica à das outras duas ensaiadas, levou 7 a 9 dias para completar as fermentações respectivamente a pH 3,0 e 2,84. No que respeita aos mostos fermentados pelas outras leveduras, as fermentações entraram na sua fase final ao quarto dia, independentemente da variação do pH. Isto leva a deduzir que as leveduras, embora prejudicadas de começo, acabaram por se adaptar ao meio.

QUADRO I

Densidade durante a fermentação

Garrafões	pH	Fermento	1.º dia	2.º dia	3.º dia	4.º dia	5.º dia	6.º dia	7.º dia	8.º dia	9.º dia	10.º dia	N.º de dias
1 e 2		F. M.	1 073	1 024	1 003	998	998						4
13 e 14	2,84	F. 31 B_2	1 078	1 071	1 013	999	998	998					5
25 e 26		F. 74 T_5	1 073	1 042	1 029	1 016	1 007	1 002	1 000	999	999	998	9
3 e 4		F. M.	1 070	1 021	1 000	997	997						4
15 e 16	3,0	F. 31 B_2	1 076	1 037	1 010	997,5	997	997					5
27 e 28		F. 74 T_5	1 071	1 030	1 014	1 001	998	997	996	996			7
5 e 6		F. M.	1 067	1 019	999	995,5	995,5						4
17 e 18	3,19	F. 31 B_2	1 074	1 030	1 009	996	995	995					5
29 e 30		F. 74 T_5	1 068	1 024	1 005	995,5	995,5						4
7 e 8		F. M.	1 066	1 020	1 000	995	995						4
19 e 20	3,37	F. 31 B_2	1 073	1 028	1 008	996,5	995	995					5
31 e 32		F. 74 T_5	1 068	1 024	1 003	995	995						4
9 e 10		F. M.	1 065	1 019	1 000	995	995						4
21 e 22	3,53	F. 31 B_2	1 072	1 026	1 007	996	995	995					5
33 e 34		F. 74 T_5	1 066	1 022	1 002	995	995						4
11 e 12		F. M.	1 064	1 018	1 000	995,5	995,5						4
23 e 24	3,68	F. 31 B_2	1 071	1 025	1 006	996,5	995,5	995,5					5
35 e 36		F. 74 T_5	1 064	1 020	1 003	995,5	995,5						4

Acidez volátil

Relacionando o pH do meio com o trabalho das leveduras, pôde concluir-se que, embora com ritmos diferentes, todas completaram as fermentações em tempo pràticamente igual e independentemente da concentração hidrogeniónica, com excepção da

QUADRO II

Resultados analíticos (após a fermentação)

Garrafões	pH inicial	Fermento	Acidez volátil (milieq./litro)	Acidez total (milieq./litro)	pH	Álcool (graus centesimais)	Substâncias redutoras (g ‰)	Glicerina (g ‰)
1 e 2	2,84	F. M.	6	203	2,71	10,75	1,38	6,9
3 e 4	3,0		5	160,5	2,8	10,75	1,31	7,0
5 e 6	3,19		4,5	123	3,13	10,62	1,16	6,9
7 e 8	3,37		4	92,5	3,40	10,62	0,99	6,9
9 e 10	3,53		3,5	76	3,66	10,8	0,95	7,3
11 e 12	3,68		3,5	66	3,73	10,6	0,87	7,05
13 e 14	2,84	F. 31 B_2	6,5	205	2,68	10,72	1,34	7,28
15 e 16	3,0		5,5	163	2,85	10,72	1,30	7,22
17 e 18	3,19		4,5	120	3,17	10,62	1,22	7,15
19 e 20	3,37		4	85	3,45	10,62	1,05	7,19
21 e 22	3,53		4	74	3,65	10,75	0,92	7,19
23 e 24	3,68		3	63	3,79	10,62	0,87	7,3
25 e 26	2,84	F. 74 T_5	8	207	2,73	10,82	1,41	7,5
27 e 28	3,0		5,5	161	2,90	10,85	1,34	7,2
29 e 30	3,19		4,5	122	3,18	10,7	1,23	6,87
31 e 32	3,37		4	91	3,44	10,72	1,02	6,95
33 e 34	3,53		4	76	3,70	10,82	0,99	7,0
35 e 36	3,68		3,5	70	3,77	10,62	0,89	6,9

F. 74 T_5 que a pH 2,84 e 3,0 foi acentuadamente retardada na sua actividade fermentativa. Em todo o caso, como se viu pela diferenciação nas densidades (Quadro I), no primeiro e no segundo dias os três fermentos sofrem, no começo da sua actividade, a influência do pH do meio, se bem que acabem por se adaptar a ele.

No que respeita à acidez volátil, os números constantes dos Quadros II e III, e dos gráficos correspondentes (Fig. 1, 2 e 3) mostram claramente que ela surgiu nos vinhos em quantidades

proporcionais à acidez real dos mostos. E precisamente porque o seu teor se eleva à medida que o pH desce, não poderá pôr-se a hipótese de trabalho bacteriano.

Será lícito, pois, admitir que a adaptação dos fermentos ao meio não se faz sem que sobre a sua actividade fique bem vincada

QUADRO III

Evolução da acidez volátil

(milieq./litro)

Garrafões	pH	Após a fermentação	45 dias depois da fermentação
1 e 2	2,84	6	6
3 e 4	3,0	5	4,5
5 e 6	3,19	4,5	5
7 e 8	3,37	4	8,5
9 e 10	3,53	3,5	9
11 e 12	3,68	3,5	10
13 e 14	2,84	6,5	6
15 e 16	3,0	5,5	4,5
17 e 18	3,19	4,5	7
19 e 20	3,37	4	9
21 e 22	3,53	4	10
23 e 24	3,68	3	11,5
25 e 26	2,84	8	7,5
27 e 28	3,0	5,5	5
29 e 30	3,19	4,5	6,5
31 e 32	3,37	4	8,5
33 e 34	3,53	4	9,5
35 e 36	3,68	3,5	11

a adversidade das condições em que trabalham no início. Pode, por isso, supor-se que, na sua maior percentagem, os ácidos voláteis formados na fermentação surgem precisamente no período de adaptação das leveduras ao meio.

Comparando os nossos resultados com as observações de KAYSER (Quadro IV), vê-se que os teores de acidez volátil proveniente da fermentação estão de acordo uns com os outros, na medida em que possa haver paralelo entre as variações de acidez total de um mosto de cevada acidificado (caso de KAYSER) e as da

acidez total e real do mosto de uvas. É evidente a diferença de amplitudes entre os resultados de KAYSER e os do nosso ensaio, tanto no que se refere à acidez volátil como às matérias redutoras residuais, a que adiante se alude, o que deve explicar-se pela dife-

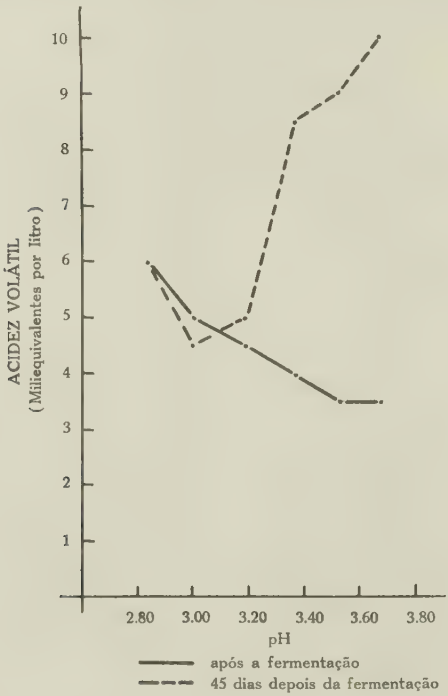


Fig. 1 — Acidez volátil produzida pelo fermento-mistura.

rença dos meios utilizados — um natural, o mosto de uvas, outro artificial, o mosto de cevada.

Isto permite supôr que um meio naturalmente ácido não afecta a vida das leveduras que a ele estão habituadas.

Convirá definir-se, a propósito, o que pode entender-se por *meio natural das leveduras alcoólicas:*

PASTEUR, citado por VENTRE (6), demonstrou que a abundância de leveduras sobre os cachos de uvas atingia o seu máximo na altura da vindima, diminuindo tanto para àquem como para além dessa época.

Sabendo-se que o pH dos mostos sobe à medida que a maturação avança, é lógico supôr que o meio mais tolerado pela levedura alcoólica, no que respeita à concentração hidrogeniónica, seja o que mais se assemelha àquele que as uvas maduras (matu-

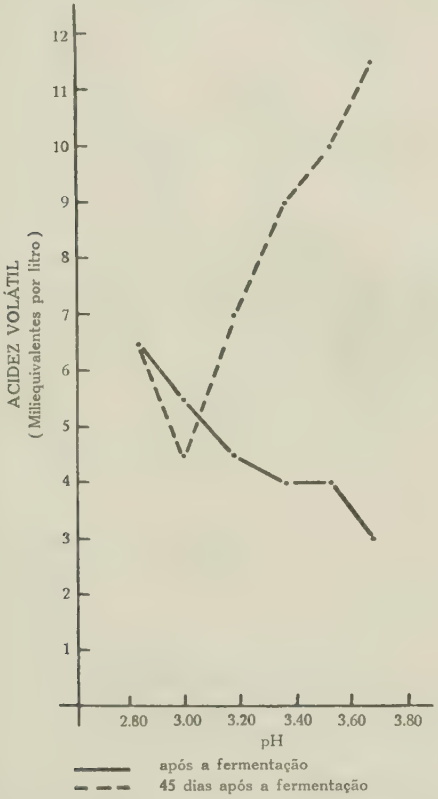


Fig. 2 — Acidez volátil produzida pelo fermento F. 31 B_2.

ração fisiológica) podem proporcionar. E, porque a sucessão das gerações vai fazendo a adaptação da levedura à acidez própria dos mostos da região, à percentagem de açúcar, ao teor em ácido fosfórico e potassa — que são indispensáveis à sua vida, — nós cremos também que as leveduras encontram, nos mostos da região onde são criadas, o seu ambiente mais favorável, por ser esse o seu *meio natural*.

A acidez volátil variou, no nosso ensaio, na razão directa da concentração hidrogeniónica — embora os números não sejam espectaculares. Que deduzir disso? Parece que, a valores de pH baixos, a levedura não pode deixar de introduzir, no mosto-vinho, maiores teores de acidez volátil.

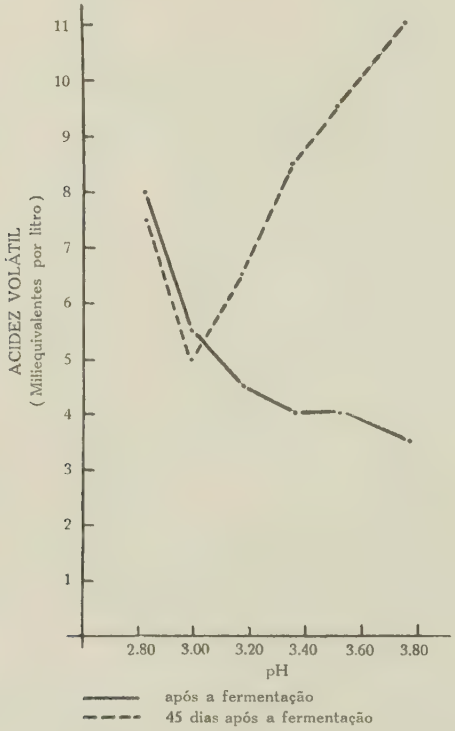


Fig. 3 — Acidez volátil produzida pelo fermento F. 74 T_5.

Entretanto, o fenómeno não deve admitir-se generalizadamente, porque se um pH baixo predispusesse o meio invariàvelmente para a maior produção de ácidos voláteis, os nossos vinhos verdes, uma grande parte dos vinhos franceses, os do Reno e os suíços, muitos dos vinhos espanhóis, como os da Galiza e os de Rioja, há muito estariam conhecidos por esta característica — o que na realidade não sucede.

Atribuiremos, pois, as diferenças reveladas pelos números à

alteração introduzida no meio, ou, para mais nos cingirmos à realidade, ao facto de termos retirado as leveduras do seu meio natural óptimo.

QUADRO IV

Reprodução parcial dos resultados da fermentação obtidos por KAYSER

Levedura	Ácido tartárico	a 25º			a 35º		
		Acidez total	Acidez volátil	Açúcares redutores	Acidez total	Acidez volátil	Açúcares redutores
	7,5	8,14	1,15	39,0	9,49	1,45	86,8
n.º 7	3,75	5,39	0,62	3,6	4,99	0,56	52,6
	1,87	3,39	0,45	3,5	3,13	0,44	51,1
	7,5	9,68	1,35	40,8	8,88	1,11	81,3
n.º 12	3,75	5,83	0,94	7,8	5,13	0,88	49,9
	1,87	3,49	0,55	2,0	3,04	0,59	34,9
	7,5	9,07	0,96	27,1	9,04	—	68,6
n.º 71	3,75	5,29	0,32	2,3	4,9	0,55	37,3
	1,87	3,31	0,26	3,5	3,2	0,39	28,3

De facto, a análise dos resultados do nosso ensaio parece confirmar a ideia exposta, pois que:

a) a mais elevada produção de acidez volátil registou-se no trabalho da levedura F. 74 T_5, a pH 2,8 e 3, oriunda precisamente de uma região em que é vulgar o pH à volta de 3,8 e que dista cerca de 80 km da que produziu o mosto do ensaio, onde são normais os valores de pH 3,1 a 3,4. A levedura da região (F. M.) fermentou em menos tempo e produziu menos acidez volátil. A levedura F. 31 B_2, proveniente de uma área mais próxima da região (cerca de 20 km), onde o pH dos mostos se avizinha de 3,3 a 3,4, comportou-se como levedura de características intermédias.

b) Nas três séries de fermentações, a produção dos ácidos voláteis é mínima e idêntica quando o pH vai de 3,2 até 3,8, limites vulgares nos mostos das zonas vitícolas de onde provêm as leveduras.

Acidez total

Como se sabe, a acidez total dos vinhos diminui progressivamente desde o começo da fermentação, prolongando-se após o envasilhamento, o que é confirmado também pelos valores expressos no Quadro V. Esta diminuição deve-se sempre à precipitação do

QUADRO V

Evolução da acidez total

(milieq./litro)

Garrafões	pH	Antes da fermentação	Após a fermentação	Aos 45 dias depois da fermentação	Diminuição da acidez total aos 45 dias
1 e 2	2,84	226	203	194	32
3 e 4	3,0	192	160	152	40
5 e 6	3,19	132	123	92	40
7 e 8	3,37	103	92	71	32
9 e 10	3,53	88	76	63	25
11 e 12	3,68	71	66	58	13
13 e 14	2,84	226	205	195	31
15 e 16	3,0	192	163	150	42
17 e 18	3,19	132	120	90	42
19 e 20	3,37	103	85	71	32
21 e 22	3,53	88	74	63	25
23 e 24	3,68	71	63	59	12
25 e 26	2,84	226	207	192	34
27 e 28	3,0	192	161	146	46
29 e 30	3,19	132	122	89	43
31 e 32	3,37	103	91	71	32
33 e 34	3,53	88	76	61	27
35 e 36	3,68	71	69	57	14

ácido tartárico, acrescida, depois do envasilhamento, da fermentação do ácido málico; tal precipitação, segundo Ribéreau-Gayon & Peynaud, ocorre mais fàcilmente a valores de pH próximos de 3,6.

Nós, porém, observámos no nosso material que a máxima precipitação ocorreu a valores de pH entre 3 e 3,2 — facto que atribuimos à alteração química por nós provocada no meio pelas adições aos mostos, com os fins já referidos, de quantidades sucessivamente crescentes de ácido tartárico e de hidróxido de cálcio.

É que a precipitação do ácido tartárico nos vinhos depende de muitos factores: teores de ácido tartárico total, potássio e cálcio, grau alcoólico, e temperatura; e se, no nosso ensaio, podem considerar-se constantes a temperatura e o grau alcoólico, divergiram outros factores, tais como: o ácido tartárico total, o cálcio e, naturalmente, o potássio.

pH

Verifica-se que os valores do pH que vão de 3,19 a 3,37 não sofreram alterações importantes durante o tempo da fermentação (Quadro II).

As ligeiras oscilações que se notam revelam, ainda assim, uma certa tendência desses valores para se afastarem da zona média nos dois sentidos, tendência essa que é proporcional às quantidades adicionadas tanto de ácido tartárico como de hidróxido de cálcio.

Álcool

As graduações, embora concordantes nos ensaios com as três leveduras, parecem não traduzir qualquer relação com o pH a que o mosto fermentou.

Substâncias redutoras

Vê-se que o seu teor diminui na medida em que o pH se eleva (Fig. 4, 5 e 6). E como varia no mesmo sentido dos números representativos da acidez volátil, relacioná-lo-emos também com as dificuldades a que se sujeitam as leveduras quando as retiramos do seu meio natural.

Glicerina

Parece que, sendo a glicerina uma substância produzida pela levedura em condições adversas, deveria haver, entre ela e o pH do meio, um certo paralelismo, facto que na verdade não observámos.

Azoto

Os valores do azoto total e do azoto amoniacal, no fim da fermentação, variaram por litro, respectivamente, entre 200 a 250 mg, e 2,8 e 7,2 mg. Observou-se que esta variação ocorreu por forma tão desordenada que parece não ter havido qualquer

relação entre esses valores e a actividade da levedura e o pH do meio.

Clarificação dos vinhos

O ensaio iniciou-se em 6 de Outubro. Neste mês e no seguinte a temperatura decorreu amena, razão por que a limpidez dos vinhos, ao fim de 60 dias, ainda não se observava na maior parte dos garrafões. Os únicos que apresentavam o vinho limpo eram os

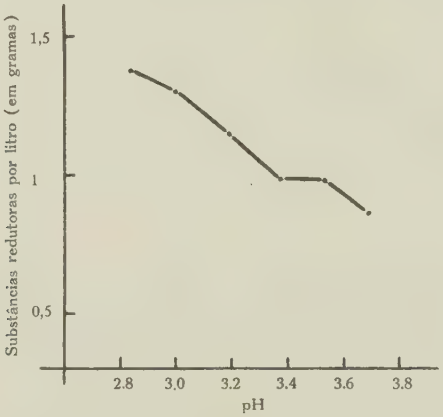


Fig. 4 — Substâncias redutoras quando utilizado o fermento-mistura.

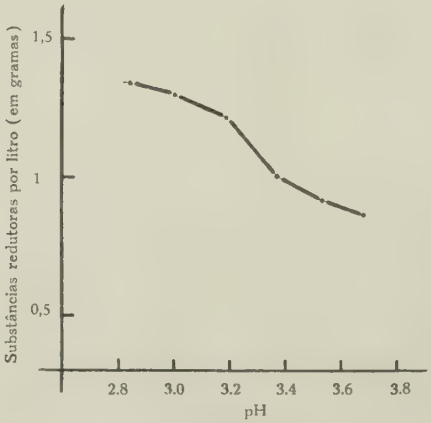


Fig. 5 — Substâncias redutoras quando utilizado o fermento F. 31 B2.

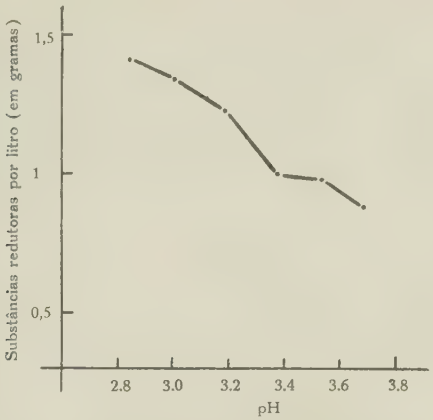


Fig. 6 — Substâncias redutoras quando utilizado o fermento F. 74 T_5.

correspondentes aos n.os 1 a 4, 14 a 16 e 25 a 28, em que o pH mais elevado era 3,0. Nestes, o vinho apresentou-se límpido passados 20 dias, ao passo que em todos os restantes a turvação era manifesta ainda ao fim de 45 dias e progressiva no sentido da elevação do pH.

CONCLUSÕES

1.ª — A acidez volátil produzida durante a fermentação alcoólica operada pelas leveduras que ensaiámos, variou sempre na razão directa da concentração hidrogeniónica do mosto, e tanto mais acentuadamente quanto mais se afastava o mosto da sua acidez natural.

2.ª — Como os ácidos voláteis, as substâncias redutoras residuais resultaram também, nas condições do nosso ensaio, directamente proporcionais à concentração hidrogeniónica do mosto.

3.ª — As variações dos teores em ácidos voláteis e das matérias redutoras existentes nos vinhos, após a fermentação, reflectem as dificuldades das leveduras em operar com o aumento da acidez real e total, dificuldades que elas vencem num espaço de tempo tanto menor quanto mais fàcilmente se adaptam ao meio: assim, a levedura F. 31 B_2 (a da região de Bucelas) mais depressa e mais fàcilmente do que a F. 74 T_5 (a da região mais distante, do

Cartaxo) e ambas mais lenta e dificilmente que a levedura da região do mosto (Dois Portos).

4.ª — Pelo facto de a adaptação das leveduras a meios diferentes daqueles de onde provêm se fazer com algum prejuízo da sua actividade fermentativa (ver a variação dos valores da densidade) dando lugar a uma maior percentagem de ácidos voláteis, cumpre ponderar prèviamente o emprego de leveduras exóticas na preparação dos fermentos vínicos.

5.ª — Porque as fermentações a pH elevado, se não houver intervenção bacteriana, originam menos ácidos voláteis, a previsão da evolução da sanidade dos vinhos, baseada no conhecimento sumário da acidez volátil após a fermentação, pode ser errónea, impondo-se, por isso, o conhecimento do pH na ocasião do envasilhamento e a correcção ácida do vinho de acordo com a acidez.

6.ª — Confirma-se, pelos resultados do presente trabalho, que, se baixos valores do pH evitam a vida bacteriana, eles contribuem, nas fermentações, para teores de acidez volátil mais elevados, sempre que, para baixarmos esses valores, alteremos o meio natural das leveduras. Nestas condições, é lógico admitir que, em anos e regiões onde se não recêem temperaturas elevadas (acima de 35 graus), a correcção ácida à base de ácido tartárico deve efectuar-se no fim da fermentação e imediatamente a seguir ao envasilhamento, para fazer baixar o pH a 3,3 e, no período da fermentação, *sempre que* o estado sanitário das uvas prudentemente a isso aconselhe.

AGRADECIMENTO

Ao Sr. Prof. Artur Vasco Garcia, do Instituto Superior de Agronomia, que amàvelmente nos cedeu as leveduras utilizadas neste trabalho, os nossos sinceros agradecimentos.

Ao Sr. Eng. Agrónomo Jordão Martins, Director do Posto Vitivinícola de Dois Portos, estamos muito reconhecidos pela gentileza com que nos facilitou o material para este ensaio e as instalações do Posto, onde o trabalho foi iniciado.

Ao Sr. Eng. Agrónomo Lúcio Mercês de Mello, Investigador da Estação Agronómica e Chefe do Departamento em que trabalhamos, queremos exprimir o nosso reconhecimento pelos esclarecimentos, prestados no decurso do ensaio; pelo seu conselho sempre

oportuno e amigo, e, muito especialmente, pela confiança que tem depositado neste seu mais modesto colaborador.

Ao Eng. Agrónomo MÁRIO PATO, vice-presidente da Comissão Técnica Permanente de Viticultura e Enologia, agradecemos as sugestões superiormente formuladas, às quais se deve o aproveitamento prático do presente trabalho.

RÉSUMÉ

Cette étude porte sur la variation de l'acidité volatile de la fermentation alcoolique due à l'acidité réelle du milieu.

Afin d'obtenir des variations de pH de 2,8 à 3,8, dans lesquelles on a eu soin d'établir des différences aux environs de 0,2, un moût de la région vinicole de Dois Portos fut soumis à une correction acide. Ensuite ce même moût a subi l'action de trois levains différents — l'un, formé par un mélange de levures de moût de la région de Dois Portos, et les autres, sélectionnés, de régions différemment éloignées de celle-là.

Au cours de ces fermentations on a remarqué que l'abaissement de leur densité variait selon les difficultés soulevées aux levures, au fur et à mesure que la réaction acide du moût augmentait, tout spécialement s'il s'agissait de levures provenantes de régions où les moûts accusent, normalement, un pH plus élevé.

L'auteur met en évidence les difficultés auxquelles les levures sont soumises toutes les fois qu'on leur procure un milieu différent de celui de leur provenance. Aussi l'auteur appelle-t-il l'attention sur l'inconvénient qui peut résulter de l'emploi de levures exotiques et sur l'opportunité la plus convenable des corrections acides qui devront avoir lieu lors du décuvage, dès qu'il soit question de raisins sains et qu'en leur vinification on n'ait pas à craindre de relever des températures très élevées. L'acidité volatile, résultante des fermentations des moûts, diminue au fur et à mesure que le pH du milieu augmente, c'est à dire — moins d'acides volatils, plus de conditions les plus favorables aux bactéries, et vice-versa. C'est pourquoi l'auteur souligne l'erreur qui peut résulter de la prévision, au point de vue sanitaire, des altérations des vins, quand on la fait baser sur l'acidité volatile déterminée aussitôt après les fermentations.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRAVO, P. & OLIVEIRA, D.
1925 *Vinificação moderna*, 3.ª Ed. Oficinas de « O Comércio do Porto », Porto.
2. COMISSÃO TÉCNICA DOS MÉTODOS QUÍMICO-ANALÍTICOS
1933 *Métodos oficiais para as análises dos vinhos, vinagres e azeites*. Reimpressão do Serviço de Publicidade da Direcção Geral da Acção Agrária, Lisboa.
3. LENCASTRE, A. DE Q. VASCONCELLOS E
1946 Doseamento da glicerina no vinho do Porto e nos vinhos de pasto. *Ann. Inst. Vinho Pôrto*, **7**: 31-48.
4. PATO, M.
1953 Instruções sobre o fabrico e conservação de vinhos de pasto. *Gazeta das Aldeias*, **58**: 572-576; 615-621; 657-662; 689-693.
5. RIBÉREAU-GAYON, J. & PEYNAUD, E.
1947 *Analyse et controle des vins*. Librairie Polytechnique Ch. Béranger, Paris.
6. VENTRE, J.
Traité de vinification pratique et rationelle. Librairie Dubois et Poulain, Montpellier.

PUBLICAÇÃO DA
DIRECÇÃO GERAL DOS SERVIÇOS AGRÍCOLAS
Repartição de Estudos, Informação e Propaganda

ÍNDICE DO FASCÍCULO

SHARMA, A. K. & ROY, M. — Cytological studies on jute and its allies. I. 5-15
CUNHA, J. M. DE ARRIAGA E & BAPTISTA, J. E. — Estudo da brança do arroz - I. Combate da doença . . . 17-64
PATO, O. — Influência do pH nas fermentações vínicas 65-82

PARA A CORRESPONDÊNCIA E PERMUTA REFERENTES A ESTA REVISTA DIRIGIR-SE A:
POUR LA CORRESPONDANCE ET L'ÉCHANGE CONCERNANT CETTE REVUE S'ADDRESSER À:
LETTERS AND EXCHANGE CONCERNING THIS PERIODICAL TO BE ADDRESSED TO:

BIBLIOTECA DA ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL
SACAVÉM
PORTUGAL